



Departamento de Farmacología y Terapéutica

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

INVESTIGACIÓN SOBRE LA EXISTENCIA DE INTERACCIÓN SEXO POR FORMULACIÓN EN LOS ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

Esperanza González Rojano

**Trabajo presentado para optar al
Título de Doctor por la Universidad Autónoma de Madrid**

Directores:

Alfredo García Arieta

Francisco Abad Santos

Madrid, 2018



Departamento de Farmacología y Terapéutica

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Madrid

Dr. **Alfredo García Arieta**, Jefe de Servicio de Farmacocinética y Medicamentos Genéricos, División de Farmacología y Evaluación Clínica de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y Dr. **Francisco Abad Santos**, Jefe de Sección del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa y Profesor Asociado del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid,

CERTIFICAN, que Dña. **Esperanza González Rojano** ha realizado bajo su dirección el presente trabajo: *“Investigación sobre la existencia de interacción sexo por formulación en los estudios de bioequivalencia”*, como Tesis para alcanzar el grado de Doctor por la Universidad Autónoma de Madrid.

Para que conste a efectos oportunos, se expide y firma la presente en Madrid, a 20 de febrero de 2018.

Dr. Alfredo García Arieta

Dr. Francisco Abad-Santos

A mis padres Luis y Esperanza,
A Julio, mi marido.

"Per ardua ad astra"

ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	10
ABREVIATURAS Y SIGLAS	15
RESUMEN	17
INTRODUCCIÓN	19
1. ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA	21
1.1. Estudios de bioequivalencia para formulaciones orales de liberación inmediata..	22
Diseño.....	24
Desarrollo	26
Ayuno vs comida	26
Test y Referencia: Dosis a investigar	27
Selección de los sujetos.....	29
Estandarización	30
Tiempos de muestreo	32
Características a investigar.....	33
Parámetros farmacocinéticos	33
Fármaco padre o metabolitos	33
Enantiómeros	34
Análisis de los datos	34
Valores extremos o outliers	37
1.2. Estudios de bioequivalencia para formas de liberación modificada: parches transdérmicos.....	38
2. INTERACCIÓN SEXO POR FORMULACIÓN EN ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA	40
2.1. Infrarrepresentación de las mujeres en ensayos clínicos	40
2.3. Diferencias entre hombres y mujeres	41
2.3. Interacción sexo por formulación.	45
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	55
MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
1. Criterios de inclusión y exclusión de los estudios de bioequivalencia.....	63
2. Métodos estadísticos	65
3. Análisis gráfico de los datos	67
RESULTADOS	69
1. Interacción sexo por formulación en efavirenz.....	71

2. Interacción sexo por formulación en estudios realizados con parches transdérmicos ..	78
3. Interacción sexo por formulación en los estudios realizados en el Hospital Universitario de la Princesa	86
DISCUSIÓN.....	111
1. Interacción sexo por formulación en efavirenz.....	113
2. Interacción sexo por formulación en estudios realizados con parches transdérmicos	117
3. Interacción sexo por formulación en los estudios realizados en el Hospital Universitario de la Princesa	118
4. Necesidad de incluir hombres y mujeres en los estudios de bioequivalencia.....	122
CONCLUSIONES	125
AGRADECIMIENTOS.....	129
BIBLIOGRAFÍA.....	133
ANEXO	153

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de bioequivalencia obtenidos para el estudio piloto de efavirenz.....	71
Tabla 2. Resultados de bioequivalencia obtenidos en el estudio pivotal de efavirenz.	73
Tabla 3. Resultados de los 9 estudios de bioequivalencia que incluyeron hombres y mujeres de 5 parches transdérmicos presentados a la AEMPS de 2010 a 2016.	79
Tabla 4. Resultados de los 139 análisis de los 120 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa en sujetos de sexo masculino y femenino entre 2000 y 2016.....	87
Tabla 5. Razones de detección de interacción sexo por formulación en los estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa.	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Inexistencia del factor sexo ni de la interacción sexo por formulación.	46
Figura 2. Efecto sexo y sin interacción sexo por formulación.	47
Figura 3. Efecto sexo e interacción sexo por formulación.	48
Figura 4. Interacción sexo por formulación sin efecto sexo.	49
Figura 5. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre los productos test y referencia en el estudio piloto de efavirenz.	74
Figura 6. Distribución de las diferencias individuales para AUC_t en escala logarítmica entre los productos test y referencia en el estudio piloto de efavirenz.	75
Figura 7. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre los productos test (A) y referencia (C) en el estudio pivotal de efavirenz.	76
Figura 8. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre los productos test y referencia en el estudio publicado por Ibarra et al. (2016).	77
Figura 9. Distribución de las diferencias individuales de C_{min} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Fentanilo-2”.	80
Figura 10. Diagrama de cajas de los hombres (M), mujeres (F) y toda la población (T) para C_{min} en el estudio “Fentanilo-2”.	80
Figura 11. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.	82
Figura 12. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y toda la población (T) para C_{max} en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.	82
Figura 13. Distribución de las diferencias individuales de AUC_{tau} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.	84
Figura 14. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y toda la población (T) para AUC_{tau} en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.	84
Figura 15. Histograma de las diferencias entre mujeres y hombres en las estimaciones puntuales de los cocientes test /referencia para AUC_t del análisis de los 95 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa donde participaron al menos 12 mujeres y 12 hombres.	99
Figura 16. Histograma de las diferencias entre mujeres y hombres en las estimaciones puntuales de los cocientes test /referencia para C_{max} del análisis de los 95 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa donde participaron al menos 12 mujeres y 12 hombres.	100
Figura 17. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Albendazol-1”.	102
Figura 18. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Albendazol 1”.	102

Figura 19. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en la escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio “Barnidipino-1”.	104
Figura 20. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Barnidipino-1”.	104
Figura 21. Distribución de las diferencias C_{max} individuales en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio “Telmisartan-2”.	106
Figura 22. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Telmisartan-2”.	106
Figura 23. Distribución de las diferencias C_{max} individuales en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Ezetimiba-1”.	108
Figura 24. Diagrama de cajas de hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Ezetimiba 1”.	108
Figura 25. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Agomelatina”.	156
Figura 26. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Agomelatina”.	156
Figura 27. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Aripiprazol-1”.	158
Figura 28. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Aripiprazol-1”.	158
Figura 29. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio “Aripiprazol-2”.	160
Figura 30. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Aripiprazol-2”.	160
Figura 31. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Atorvastatina-5”.	162
Figura 32. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Atorvastatina-5”.	162
Figura 33. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Barnidipino-1”.	164
Figura 34. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Barnidipino-1”.	164
Figura 35. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Dexketoprofeno-1”.	166
Figura 36. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Dexketoprofeno-1”.	166
Figura 37. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Mirtazapina”.	168

Figura 38. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Mirtazapina”	168
Figura 39. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Omeprazol-2”	170
Figura 40. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Omeprazol-2”	170
Figura 41. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Fenilefrina”	172
Figura 42. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Fenilefrina”	172
Figura 43. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Rasagilina-1”	174
Figura 44. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Rasagilina-1”	174
Figura 45. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Amlodipino-4”	176
Figura 46. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Amlodipino-4”	176
Figura 47. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Atorvastatina-6”	178
Figura 48. Diagrama de cajas de hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Atorvastatina-6”	178
Figura 49. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Citalopram”	180
Figura 50. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Citalopram”	180
Figura 51. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Levetiracetam”	182
Figura 52. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Levetiracetam”	182
Figura 53. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Pantoprazol-3”	184
Figura 54. Diagrama de s en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Pantoprazol-3”	184
Figura 55. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Paracetamol”	186
Figura 56. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Paracetamol”	186

Figura 57. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Roflumilast”.....	188
Figura 58. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Roflumilast”.	188

ABREVIATURAS Y SIGLAS

AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.
ANOVA	Análisis de la varianza.
AUC	Área bajo la curva (Area Under the Curve).
$AUC_{(0-\infty)}$	Área bajo la curva extrapolada a infinito.
$AUC_{(0-t)}$	Área bajo la curva hasta la última concentración medible.
$AUC_{(0-72)}$	Área bajo la curva truncada a las 72 horas.
Área residual	Área extrapolada de AUC a infinito: $AUC_{(0-\infty)} - AUC_{(0-t)}$
C_{av}	Concentración media durante el intervalo de dosificación ($AUC_{(0-\tau)} / \tau$).
CV	Coeficiente de variación.
parcial AUC	AUC parcial entre dos puntos de corte.
C_{max}	Concentración máxima.
$C_{\tau,ss}$	Concentración al final del intervalo de dosificación en equilibrio estacionario.
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica.
EMA	European Medicines Agency (Agencia Europea del Medicamento).
EEUU	Estados Unidos.
FDA	Food and Drug Administration.
IC	Intervalo de Confianza.
ICH	International Council on Harmonisation (Consejo Internacional de Armonización).
LLOQ:	Lower Limit of Quantification (Límite inferior de cuantificación).
PEG	Polietilenglicol.
PNTs	Procedimientos Normalizados de Trabajo.
pKa	Logaritmo negativo de la constante de disociación ácida de un ácido débil.

T_{\max}	Tiempo hasta que se alcanza la concentración máxima.
$T_{\max,ss}$	Tiempo hasta que se alcanza la concentración máxima en equilibrio estacionario.

RESUMEN

La existencia de interacción sexo por formulación se ha propuesto en algunos artículos científicos. Su existencia implicaría que un medicamento genérico puede ser bioequivalente en un grupo de sexo, pero no en el otro. Sin embargo, estos artículos describen muy pocos estudios que generalmente tienen un tamaño muestral muy pequeño y, por tanto, no son fiables. El único estudio descrito con interacción sexo por formulación y con un tamaño muestral razonable se ha realizado con un parche transdérmico. Además, recientemente se ha publicado un estudio donde se observan diferencias entre sexos en el cociente test/referencia (T/R) en comprimidos de efavirenz. El objetivo de la tesis es:

- a) Investigar de manera general la existencia de interacción sexo por formulación analizando los estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa desde el año 2000 hasta 2016, lo que significa un gran número de estudios y estudios de tamaño muestral razonable.
- b) Investigar la existencia de interacción sexo por formulación en los estudios de parches transdérmicos presentados en la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) desde 2010, para investigar específicamente el caso de los parches transdérmicos.
- c) Investigar el caso concreto del efavirenz ya que en el Hospital Universitario de la Princesa se realizaron dos estudios con la misma formulación de efavirenz.

Para ello se han recopilado todos los estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa y los estudios realizados con parches transdérmicos disponibles en formato electrónico en la AEMPS para seleccionar aquellos realizados en hombres y mujeres (n=120 y 9, respectivamente).

Se han reanalizado los resultados para investigar la existencia de interacción sexo por formulación o la existencia de grandes diferencias entre los cocientes T/R de hombres y mujeres en un análisis estratificado.

Se han representado gráficamente los estudios donde se sugiere la existencia de interacción para identificar la causa. Así mismo, se ha representado el histograma de la distribución de las diferencias entre los cocientes T/R de hombres y mujeres para su descripción.

Se ha comprobado que las diferencias en los cocientes T/R entre hombres y mujeres siguen una distribución semejante a la distribución normal. Por tanto, es normal que el azar provoque grandes diferencias en unos pocos estudios. Esos pocos estudios son los que se encuentran en la literatura debido al sesgo de publicación, ya que no se publican estudios donde no se encuentran diferencias entre los cocientes T/R de los grupos de sexo o interacción sexo por formulación.

La distribución de las diferencias individuales T/R en escala logarítmica no muestra un patrón distinto entre hombres y mujeres, pero en los estudios con un pequeño tamaño muestral los valores extremos pueden sesgar los valores medios de los análisis estratificados. La frecuencia de estudios que sugieren la existencia de interacción es mayor en estudios pequeños. También se observa en algunos estudios que la distribución de los cocientes T/R en hombres y mujeres no es homogénea, con prevalencia de los hombres en una zona y la mujeres en otra sin llegar, a separarse en dos nubes de puntos distintas. Esto puede deberse simplemente al azar como se ha explicado anteriormente por la distribución normal observada.

En el caso del efavirenz se dispone de dos estudios. En el estudio piloto con un tamaño muestral reducido se observa una diferencia mayor del 16% en los cocientes T/R entre hombres y mujeres, que desaparece al repetirse con un tamaño muestral mayor en el estudio pivotal.

En el caso de los parches transdérmicos se realizan estudios en dosis única y en dosis múltiple y, por tanto, esto permitiría confirmar si la interacción existe realmente. En aquellos casos donde se sugería la existencia de interacción sexo por formulación el otro estudio disponible la descartaba.

En conclusión, nunca se ha confirmado una diferencia entre sexos en el cociente T/R en aquellos casos en los que se dispone de varios estudios sobre el mismo producto. Además, la distribución de las diferencias entre sexos en el cociente T/R de todos los estudios con un tamaño muestral de al menos 12 sujetos por grupo de sexo demuestra que es normal la existencia de estudios con diferencias notables simplemente por ser las colas de una distribución normal. En definitiva, no tenemos argumentos para afirmar que existe interacción sexo por formulación en los estudios de bioequivalencia y, por lo tanto, no es necesario modificar la guías de bioequivalencia de las agencias reguladoras que aceptan estudios en un sólo sexo o la mezcla de ambos sexos.

INTRODUCCIÓN

1. ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

La autorización de comercialización de un nuevo medicamento se emite tras un proceso de evaluación donde se verifica la eficacia, la seguridad, la calidad y la información del medicamento por parte de las agencias reguladoras (Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios); en el caso de los Estados Unidos la Food and Drug Administration (FDA) y en el caso de Unión Europea, la Agencia Europea del Medicamento (EMA).

En el caso concreto de la autorización de productos genéricos, para la demostración de seguridad y eficacia, es necesaria la realización de estudios de bioequivalencia que demuestren una biodisponibilidad equivalente entre ambas formulaciones mediante la realización de estudios farmacocinéticos (García-Arieta, 2010). Tanto la formulación de referencia como la formulación test han de presentar la misma exposición sistémica, demostrando la misma velocidad y cantidad de absorción. Si la exposición sistémica es equivalente se asume que tendrán la misma eficacia y seguridad que el producto de referencia (Flórez et al., 1992). A pesar de que los principios para establecer bioequivalencia han sido claramente establecidos desde 1992, no hay un consenso internacional sobre otros aspectos como son el diseño y el desarrollo de los estudios de bioequivalencia porque nunca han sido tratado por la International Council on Harmonisation (ICH) (García-Arieta y Gordon, 2012). En consecuencia, cada región regulatoria ha creado su normativa específica: EEUU (U.S., 2014), Unión Europea (EMA, 2010), Japón (National Institute of Health Sciences, Japan, 1997), Canadá (Health Canada, 2012) y Sudáfrica (Medicines Control Council, Department of Health Republic of South Africa, 2003), etc. En Estados Unidos hasta 1984, existían dos tipos de solicitud de comercialización de genéricos, dependiendo de la fecha de autorización del innovador. En aquellos principios activos aprobados antes de 1962 se consideraba suficiente con que demostraran bioequivalencia con estudios farmacocinéticos comparándose con el innovador. Sin embargo, los solicitantes de genéricos de innovadores aprobados después de 1962 se les exigía además estudios de eficacia y seguridad (Boehm et al., 2013). Esto era un proceso lento y costoso que se reflejaba en la existencia de pocos genéricos en el mercado (Caves et al., 1991, Reiffen y Ward 2005), representando únicamente un 18% de todos los medicamentos de venta bajo receta médica (Stahl, 2009). Con la promulgación de la Ley Hatch-Waxman en 1984 se agilizó el proceso requiriendo demostrar equivalencia del genérico respecto al innovador bajo rigurosas reglas basadas en principios científicos bien establecidos. El proceso de fabricación debía ser conforme a todas las regulaciones aprobadas por la FDA y se permitía comenzar el proceso de desarrollo del genérico

antes de que la patente expirase. Además esta ley concedía a la primera compañía que comercializará el genérico, la exclusividad de comercialización durante 180 días lo que permitía recuperar la inversión realizada en el desarrollo del genérico. También permitía a las compañías de innovadores desafiar judicialmente a los fabricantes de genéricos aferrándose en su deseo de conservar la patente el mayor tiempo posible, llegando a retrasar el proceso de comercialización hasta 30 meses. Actualmente, la FDA autoriza las solicitudes de genéricos mediante un proceso denominado “solicitud abreviada de nuevo medicamento, (Abbreviated New Drug Application: ANDA)”, donde la empresa desarrolladora del genérico debe demostrar que la fórmula farmacéutica es esencialmente igual (en composición y cantidad de principio activo), que presenta un comportamiento *in vitro* semejante al de referencia y que es bioequivalente (aunque en algunos productos de acción local es necesario demostrar equivalencia desde el punto de vista farmacodinámico o clínico) (Stahl, 2009).

La directiva 65/65/CEE del Consejo, de 26 de enero de 1965, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas sobre especialidades farmacéuticas fue la primera en fijar los principios de regulación de los medicamentos en la Comunidad Europea. Fue en la década de 1990 cuando se decidió introducir procedimientos abreviados de autorización de medicamentos basados en su similitud con un producto de referencia ya autorizado en la Unión Europea (Moreno, 2016). La primera guía europea de bioequivalencia se publicó en 1991 para tratar de armonizar y regular todos los procedimientos de autorización de medicamentos en la Unión Europea. Posteriormente fue actualizada en dos ocasiones: por primera vez en 2001 (EMA, 2001) y por segunda y última vez en 2010 (EMA, 2010). Sin embargo, estas guías se complementan con el documento de preguntas y respuestas que abordan cuestiones específicas que no han sido tratados en las guías (EMA, 2006, EMA, 2015).

1.1. Estudios de bioequivalencia para formulaciones orales de liberación inmediata

Dos productos que contienen el mismo principio activo tras la administración a la misma dosis molar son considerados bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos (o alternativas) y sus biodisponibilidades (evaluadas mediante la velocidad y magnitud) se encuentran dentro de unos límites predefinidos. Estos límites se han establecido para asegurar un comportamiento similar *in vivo* en términos de seguridad y eficacia. La curva de concentración plasmática-tiempo se utiliza para evaluar la velocidad y magnitud absorbida mediante la determinación de ciertos parámetros farmacocinéticos como son C_{max} (máxima concentración plasmática) y AUC (área bajo la curva) respectivamente (Díez-Rodríguez, 1999).

El objetivo de determinar que dos productos son bioequivalentes es demostrar equivalencia en la calidad farmacéutica entre el producto de referencia y el genérico para evitar tener que repetir los ensayos clínicos de eficacia y seguridad que tuvieron que realizarse para autorizar al medicamento innovador. Se espera que el producto test tenga el mismo efecto terapéutico y perfil de seguridad que el medicamento de referencia cuando se administre a pacientes bajo las condiciones especificadas en la ficha técnica.

Los estudios de bioequivalencia también son necesarios para comparar las distintas formulaciones del innovador durante el desarrollo clínico, o para comparar nuevas formulaciones o nuevos métodos de fabricación del producto innovador una vez que está en el mercado, así como para confirmar que los cambios en los genéricos una vez en el mercado siguen siendo bioequivalentes con el innovador (U.S., 2014).

El concepto de genérico no es exactamente el mismo en todos los países ya que los criterios para determinar bioequivalencia varían entre diferentes agencias reguladoras. (Alfonso-Cristancho R et al., 2015, Tamboli AM et al., 2012). Es importante entender el concepto de genérico definido en la Directiva 2001/83 (Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 April 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use) que es diferente del concepto de genérico definido por la FDA. En la Unión Europea, aquellos productos que muestran equivalencia mediante estudios farmacodinámicos o de equivalencia terapéutica mediante la determinación de ciertos parámetros clínicos son considerados híbridos. Los genéricos son aquellos que demuestran bioequivalencia en estudios de biodisponibilidad (García-Arieta y Gordon, 2012). De acuerdo a la definición propuesta por la FDA, el genérico es un medicamento creado para ser semejante al medicamento de referencia ya comercializado en cuanto a la forma de dosificación, seguridad, concentración, vía de administración, características, calidad y uso previsto. Estas similitudes ayudan a demostrar bioequivalencia de forma que se asume que el genérico se comporta igual que el medicamento de marca. En otras palabras, el genérico sustituye al de marca.

En la Unión Europea, se define genérico como todo medicamento que tenga la misma composición cuantitativa y cualitativa en principios activos que el producto de referencia, su misma forma farmacéutica, y cuya bioequivalencia con el producto de referencia haya sido demostrada mediante estudios de biodisponibilidad apropiados. Las diferentes sales, éteres, ésteres, isómeros y mezclas de isómeros, complejos o derivados de un principio activo son considerados el mismo principio activo a no ser que difieran significativamente en propiedades relativas a seguridad y/o eficacia. Además las diferentes formas farmacéuticas orales de

liberación inmediata se considerarán una misma forma farmacéutica. Estas diferencias pueden ser difíciles de entender ya que el genérico ha de ser intercambiable con el medicamento de referencia, pero hay que recordar que la legislación europea sólo se ocupa de la autorización de medicamentos con una relación riesgo/beneficio favorable sin garantizar que sean intercambiables con el producto de referencia, ya que la sustitución es una política sanitaria a nivel nacional (García-Arieta y Gordon, 2012).

Diseño

Los estudios de bioequivalencia deben ser diseñados para poder distinguir el efecto de la formulación de otros efectos. El número de estudios y su diseño dependen del tipo de liberación (inmediata o modificada), de las características de los fármacos en investigación (variabilidad intraindividual), de sus propiedades farmacocinéticas (linealidad o no linealidad), de si las distintas dosis del genérico son proporcionales en composición, de si presentan perfiles de disolución semejantes o de si se fabrican con el mismo proceso.

En ocasiones el promotor puede decidir realizar un estudio piloto con un número reducido de sujetos antes de llevar a cabo el estudio pivotal (Wang y Zhou, 1999), aunque no existen recomendaciones específicas en ninguna guía sobre cómo realizar un estudio piloto (Lancaster GA et al., 2004). Este estudio proporcionará información útil para validar el método bioanalítico, o para evaluar la variabilidad farmacocinética que determinará el tamaño muestral (Marzo et al., 2004; Fuglsang, 2015), o para optimizar los intervalos de recogida de muestras (U.S., 2014). Los resultados obtenidos de este diseño pueden ser utilizados para establecer bioequivalencia si un número suficiente de sujetos ha completado el estudio, siendo 12 el número mínimo permitido (Julious, 2005; EMA, 2010; U.S., 2006) aunque no es su objetivo principal (Mathew, 2007; Zhang et al., 2012). En estudios piloto, los resultados obtenidos, rara vez son publicados en la literatura (Arain et al., 2010; Thabane et al., 2010).

El diseño estándar consiste en comparar dos formulaciones mediante un estudio aleatorizado de dos periodos y dos secuencias en dosis única. La dosis única es más sensible para detectar diferencias en la velocidad de absorción mediante C_{max} . Ambos periodos deben ser separados un tiempo suficientemente amplio para garantizar que las concentraciones pre-dosis sean indetectables o menores del 5% de la C_{max} del siguiente periodo y para ello el límite inferior de cuantificación (LLOQ) del método bioanalítico debe ser capaz de detectar niveles menores al 5% del C_{max} . Por lo general el periodo de lavado debe ser de al menos cinco (EMA, 2010) a diez (Health Canada, 2012) semividas de eliminación. No conviene exceder en más de tres o cuatro

semanas el tiempo entre los periodos para poder asumir que el aclaramiento de los sujetos es constante. Sin embargo, en caso de fármacos con una larga semivida es preferible un prolongado periodo de lavado a tener que realizar un diseño paralelo porque en este caso la comparación se realiza teniendo en cuenta la variabilidad interindividual que es mayor que la intraindividual.

En estudios realizados en pacientes, puede no ser ético realizar un periodo de lavado (pasivo) retirando el tratamiento, por lo que se realiza un periodo de lavado (activo) realizándose los estudios en estado estacionario. A pesar de tener menos sensibilidad para detectar diferencias en la velocidad de absorción, se evita el efecto de arrastre de la formulación previa. El fármaco se administra durante un periodo suficientemente largo (más de 5-10 semividas) antes de comenzar a extraer muestras para dar tiempo a que se eliminen los niveles debidos a la primera formulación y asegurarnos que la segunda formulación haya llegado al estado estacionario (Health Canada, 2012).

Cuando se quiere comparar más de dos formulaciones se emplean diseños con más secuencias y más periodos permitiendo que el error intrasujeto presente más grados de libertad y por tanto sean necesarios tamaños muestrales más reducidos (Health Canada, 2012). En determinadas circunstancias, otros diseños, como los estudios replicados son utilizados cuando el principio activo presenta una gran variabilidad. Entre las ventajas que ofrecen los diseños replicados se encuentra el hecho de permitir comparar varianzas intrasujeto entre el test y la referencia, proporcionando más información sobre factores intrínsecos que subyacen a la formulación y así poder reducir el número de sujetos necesarios para poder establecer bioequivalencia cinética (Tothfalusi et al., 2009).

Los diseños paralelos se utilizan para fármacos con una semivida muy larga y se usará el error intersujeto obtenido del análisis de la varianza (Health Canada, 2012), como por ejemplo en productos de liberación prolongada como el acetato de medroxiprogesterona (Pollow et al., 1989). Desde el punto de vista estadístico solo compensaría cuando la variabilidad interindividual es casi tan alta como la intraindividual ya que ofrecen la ventaja de terminar el estudio antes.

Los diseños en dos etapas se proponen cuando la varianza intrasujeto descrita en la literatura es incierta, de forma que no se puede calcular el tamaño muestral con certeza. Se distinguen dos diseños posibles en los que se ha de preservar el error tipo I al 5% y debe quedar definido a priori en el protocolo: el diseño secuencial y el diseño adaptativo. Ambos permiten hacer un análisis interno en la primera etapa, y en caso de que no se haya podido establecer

bioequivalencia con el primer grupo de sujetos, se reclutará un segundo grupo de sujetos y se combinan los resultados (Health Canada, 2012).

En el diseño secuencial el tamaño muestral de ambas etapas esta predefinido mientras que en el diseño adaptativo el tamaños muestral de la segunda etapa depende de los resultados de la primera etapa. Demostrar que se preserva el error tipo I en los diseños adaptativos es complicado por lo que en la actualidad no se utilizan. El diseño secuencial de Pockok es el diseño más empleado, ambas etapas tienen el mínimo tamaño muestral y en ambos análisis se calcula un intervalo de confianza (IC) al 93.93% (Kieser y Rauch, 2015) aunque la guía europea indica que debe ser al 94.12% por error, ya que ese valor corresponde a los estudios paralelos de superioridad y no a los estudios cruzados de bioequivalencia (EMA, 2010).

En los EE.UU., se emplean otros diseños en dos etapas más complejos (Potvin et al., 2008; Montague et al., 2012; Xu et al., 2016) que no se contemplan en la Unión Europea ya que se basan en simulaciones cuyos resultados varían según los escenarios, lo que suscita dudas sobre su capacidad para controlar o mantener el error de tipo I en todas las ocasiones.

Sólo en casos excepcionales se permite realizar un ensayo en dosis múltiple cuando existen problemas de sensibilidad en el método analítico para poder detectar concentraciones plasmáticas tras la administración de dosis única. De esta forma, se conseguirían concentraciones en equilibrio estacionario suficientemente altas para poder ser medidas de forma fiable. Teniendo en cuenta que la detección de diferencias en C_{max} es menos sensible en este tipo de diseños, sólo debe ser admitida si se justifica adecuadamente que la sensibilidad del método no puede ser mejorada y que no está permitido administrar una dosis supraterapéutica o que incluso con dicha dosis supraterapéutica es imposible la detección de concentraciones (el-Tahtawy et al., 1994).

Desarrollo

Ayuno vs comida

En general, los estudios de bioequivalencia deben llevarse a cabo en las condiciones más discriminativas para poder detectar diferencias potenciales en la formulación. Sin embargo, el estudio de bioequivalencia debe realizarse de acuerdo con las instrucciones de uso del medicamento de referencia. Si la ficha técnica recomienda tomar el medicamento con el estómago vacío o independientemente de la ingesta de alimentos, el estudio de bioequivalencia ha de realizarse en ayunas, ya que en la Unión Europea se considera que es la condición más sensible para detectar diferencias (EMA, 2010). En cambio, en los EE.UU. se exigen ambos

estudios cuando el medicamento se puede tomar con o sin alimentos, porque se han visto casos que el medicamento es bioequivalente en ayunas y no con comida (U.S., 2006).

Si la ficha técnica recomienda administrar el medicamento acompañado de alimentos, el estudio deberá realizarse con la comida que venga especificada en la ficha técnica; pero si no hay una recomendación establecida, ésta deberá ser rica en grasas (aproximadamente 50% del contenido total) y altamente calórica (800-1000 calorías), ya que se considera la situación en la que se produce la máxima perturbación de la biodisponibilidad del fármaco (EMA, 2010; U.S., 2003). Hay que tener en cuenta que este tipo de comida se utiliza para los productos de liberación modificada y la comida rica en grasa representa la situación que somete a las formulaciones al mayor estrés, por ejemplo mayor tiempo de residencia en el estómago (EMA, 2010). En los EE.UU., en este caso se exigen estudio con comida rica en grasa y estudio en ayunas porque el estudio en ayunas representa el caso más extremo de una comida ligera. Este último estudio se podría eximir si la ingesta en ayunas presenta problemas de tolerabilidad (U.S., 2003).

Si se decide optar por otro tipo de alimentos, debe ser algo excepcional debido a problemas de seguridad y quedar científicamente justificado.

En la Unión Europea, en determinadas formulaciones, con tecnologías de fabricación sofisticadas como las microemulsiones o dispersiones sólidas que se administren con y sin alimentos, los estudios deberán realizarse en ambas situaciones (en ayuno y con comida). Por ejemplo en las microemulsiones de ciclosporina (EMA, 2010).

Test y Referencia: Dosis a investigar

El producto seleccionado como referencia para llevar a cabo el estudio de bioequivalencia debe ser un producto con un expediente completo y no abreviado. A pesar de que de acuerdo a la Directiva 2001/83, la definición de producto de referencia debe ser un producto autorizado de acuerdo al Artículo 6 y a las disposiciones del artículo 8 (expediente completo innovador o mixto), la existencia de “Notice to Applicants” (European Commission Enterprise Directorate-General: Marketing Authorisations, 2005) y la guía de bioequivalencia (EMA, 2010) han ampliado su definición. Por tanto, productos solicitados de acuerdo con el artículo 10a (uso bien establecido), 10b (combinaciones a dosis fijas) y 10c (licencias) de la Directiva 2001/83/EC pueden ser considerados como medicamento de referencia (García-Arieta y Gordon, 2012).

El test utilizado en el estudio debe ser representativo del producto que va a ser comercializado. El lote debe ser al menos de escala piloto pero si el lote industrial es menor de 100.000 unidades

se debe utilizar el lote industrial. Si el lote industrial tiene entre 100.000 y 1.000.000 de unidades, el lote piloto debe tener al menos 100.000 unidades, y si el lote industrial tiene más de 1.000.000 de unidades el lote piloto ha de provenir de un lote del cual suponga al menos la décima parte o 100.000 unidades, lo que sea mayor. Además debe asegurarse que será factible producirlo a gran escala. Es necesario que queden especificadas determinadas cualidades consideradas críticas como son los perfiles de disolución y el contenido del producto test no debe diferir más de un 5% del lote del producto utilizado como referencia.

Si se solicita autorizar diferentes dosis puede ser suficiente establecer bioequivalencia con una única dosis o con dos dosis, si se cumplen los siguientes requisitos: la composición es proporcional entre las diferentes dosis, los perfiles de disolución son semejantes y todas las dosis se fabrican con el mismo proceso de fabricación. La dosis a evaluar depende de si la farmacocinética del principio activo es lineal y de si su solubilidad es alta o baja. Se considera lineal si la diferencia de la AUC ajustada por dosis de las distintas dosis con respecto a la dosis utilizada en el estudio de bioequivalencia no es mayor del 25%. Por lo que si la bioequivalencia ha sido demostrada en la dosis más sensible para detectar diferencias, no hay necesidad de realizar estudios para otras dosis si se cumplen los siguientes requisitos:

- 1- Las distintas dosis han de ser fabricadas con el mismo proceso de fabricación.
- 2- La composición cualitativa entre las diferentes dosis es la misma.
- 3- La composición entre las diferentes dosis es cuantitativamente proporcional, definida como la proporción entre la cantidad de principio activo y de excipientes. Si esta última condición no llegara a cumplirse, también sería aceptable mantener la cantidad de los excipientes contantes y cambiar únicamente la cantidad de principio activo siempre que la cantidad de principio activo fuera menor del 5% del peso del núcleo del comprimido. También sería aceptable este último caso si la diferencia en principios activos se compensara con la cantidad de excipiente diluyente.

Si el producto de referencia presenta una farmacocinética no lineal con aumento no proporcional de AUC al aumentar la dosis, podrían existir diferencias entre las dosis para detectar posibles diferencias entre las formulaciones del test y la referencia.

Si el producto presenta una farmacocinética lineal o una farmacocinética no lineal con un aumento más que proporcional en AUC, por lo general, el estudio se realizará con la dosis más alta. En productos que presentan una farmacocinética lineal y la sustancia sea altamente soluble se permite seleccionar una dosis más baja. También se permite seleccionar una dosis más baja si la dosis alta no puede ser administrada a voluntarios sanos por razones de seguridad y

tolerabilidad. Si existieran problemas de sensibilidad con el método analítico podría usarse una dosis más alta siempre y cuando sea bien tolerada en voluntarios sanos.

Sin embargo, para productos que presentan una farmacocinética no lineal caracterizada por un aumento menor de lo esperado proporcionalmente en AUC, sería necesario demostrar bioequivalencia con dos estudios utilizando la dosis más alta y la más baja.

Excepcionalmente, si la no linealidad es menos que proporcional y no fuera debido a un problema de solubilidad, sino por una saturación de los transportadores (por ejemplo gabapentina) y si cumple todos los requisitos necesarios para solicitar exención, así como no presenta excipientes que puedan afectar a la motilidad gastrointestinal o al transporte de proteínas (por ejemplo sorbitol, manitol o tensoactivos), sería suficiente demostrar bioequivalencia con la dosis menor o una dosis en el rango lineal.

Si fuera necesario demostrar bioequivalencia en más de dos dosis, se acepta realizar únicamente dos estudios con las dosis más extremas (la más alta y la más baja o aquellas que difieran más en composición), en lo que se conoce como “bracketing approach”. Si además fuera necesario realizar estudios en ayunas y con comidas a dos dosis diferentes, podría ser suficiente demostrar bioequivalencia de una de las dosis en ayuno y con comida, y con la otra dosis en la condición más sensible para poder detectar diferencias de acuerdo con los resultados de los dos estudios anteriores.

Selección de los sujetos

El número de sujetos necesario para llevar a cabo un estudio de bioequivalencia debe basarse en un cálculo apropiado del tamaño muestral, nunca pudiendo ser inferior a doce sujetos (Julious, 2005; EMA, 2010; U.S., 2003). El número total de sujetos deber ser adecuado para proporcionar un poder suficiente para demostrar bioequivalencia, normalmente 80 o 90%. No se espera que se puedan obtener conclusiones fiables mediante el análisis de subgrupos (U.S., 2003).

Para reducir la variabilidad no relacionada con los medicamentos en investigación se seleccionan voluntarios sanos. Este modelo se considera adecuado en la mayoría de casos para detectar diferencias en las formulaciones y poder extrapolar los resultados a las poblaciones de sujetos donde el producto de referencia esté aprobado (ancianos, niños, pacientes con insuficiencia renal o hepática...). Únicamente si no fuera ético por razones de seguridad se seleccionarían pacientes (EMA, 2010; U.S., 2003). En algunos casos, podría ser útil incluir pacientes para los que

esté previsto su uso pero es recomendable que su patología se mantenga estable al menos el tiempo que dure el estudio (U.S., 2003).

Los criterios de inclusión y exclusión deben estar claramente definidos en el protocolo. Todos deben someterse a un reconocimiento médico mediante pruebas de laboratorio, historia clínica y exploración física, que puede variar según el producto de investigación. Los sujetos deben ser mayores de 18 años, preferiblemente con un índice de masa corporal entre 18.5 y 30 kg/m², no fumadores y sin antecedentes de abuso de sustancias tóxicas. En cualquier caso, todo esto se comprobará de forma rutinaria previamente a la administración del fármaco. Se recomienda no incluir a mayores de 55 años dado que pueden comenzar a presentar cambios propios del envejecimiento.

Los sujetos pueden pertenecer a cualquiera de los dos sexos, sin embargo el riesgo de mujeres en edad fértil debe ser tenido en cuenta (EMA, 2010). Según la guía estadounidense, la población de estudio ha de ser representativa de la población general, teniendo en cuenta la edad, el sexo y la raza, por lo que recomienda que si se pretende usar el producto en ambos sexos, el promotor debe procurar incluir una proporción similar de hombres y mujeres en el estudio (U.S., 2003). Así mismo, si el fármaco prevé utilizarse predominantemente en ancianos, se recomienda al promotor intentar incluir el mayor número de sujetos mayores (U.S., 2003). En su versión actualizada la guía estadounidense (U.S., 2014), indica que tanto hombres como mujeres deben ser incluidos a no ser que haya una razón específica para excluir uno de los sexos. Estas razones pueden estar relacionadas con el sexo de la población para la cual el fármaco esté indicado o que se tenga conocimiento que hay mayor frecuencia de reacciones adversas en uno de los sexos. Por ejemplo, los anticonceptivos orales son evaluados en mujeres porque tienen una indicación específica en mujeres. Si el fármaco tiene riesgo potencial de ser teratogénico, deberá ser evaluado en hombres.

Estandarización

Las condiciones en las que se desarrolla el estudio deben ser lo más estándar posibles para reducir al mínimo la variabilidad de todos los posibles factores involucrados, y poder detectar el efecto de la formulación. Se ha de hacer un esfuerzo para conseguir estandarizar las condiciones en cada fase del estudio, por ejemplo, la administración de la medicación debe ser aproximadamente a la misma hora. La dieta, la cantidad de líquidos, alcohol y tabaco o el ejercicio físico entre otros, deben estar estandarizados.

Por lo general y salvo que no haya una justificación al respecto, los sujetos deben estar en condiciones de ayuno al menos 8 horas antes de la administración sin poder ingerir alimentos hasta pasadas 4 horas. No se permite beber agua una hora antes y hasta una hora después y los líquidos permitidos la noche previa a la administración no deben contener xantinas, flavonoides o alcohol.

Tanto el producto test como el de referencia han de administrarse con un volumen estándar de agua, de al menos 150 ml de agua (EMA., 2010) o 240 ml de agua (U.S., 2003) o entre 150 a 250 ml (Health Canada, 2012) a una temperatura estándar.

Los alimentos después de la administración de los medicamentos han estandarizarse en cuanto a la composición y tiempo de administración en ambos periodos. En caso de que sea necesario hacer el estudio con comida, es recomendable llevarlo a cabo de acuerdo a la ficha técnica del producto innovador. Si no las hubiera, se recomienda comer 30 minutos antes de la administración y terminar la comida en al menos 30 minutos.

Como la biodisponibilidad del fármaco puede depender del tiempo de tránsito gastrointestinal y del flujo sanguíneo en la zona de absorción, podría verse afectada por la posición, por lo que es importante estandarizar también la postura de los sujetos, manteniendo el mismo patrón de postura a lo largo de todo el estudio. Por lo general no está permitido tumbarse hasta pasadas dos horas de la administración.

En un periodo razonable antes y después del estudio, los sujetos han de abstenerse de ingerir alimentos y bebidas que puedan modificar el tránsito gastrointestinal, el metabolismo hepático o la eliminación renal.

Los voluntarios no deben tomar ninguna medicación concomitante (excepto los anticonceptivos que estén permitidos) ni productos de herbolario durante un periodo razonable para el desarrollo del estudio. En caso de que sea inevitable la administración de medicación (por ejemplo para tratar un efecto adverso ocurrido durante el desarrollo del estudio) debe quedar registrado la dosis y momento de administración, así como los posibles efectos en el resultado del estudio. En raras ocasiones, cuando el uso de medicación concomitante es necesaria para todos los sujetos por razones de tolerancia y seguridad, es necesario identificar el riesgo potencial de interacción con los medicamentos en investigación. Por ejemplo el uso de naltrexona como antagonista de opioides (Gosai et al., 2013).

La decisión de incluir o excluir a un sujeto del análisis de bioequivalencia debe hacerse antes del análisis de las muestras de sangre y siempre ha de quedar reflejado en el cuaderno de recogida de datos.

Tiempos de muestreo

Es necesario extraer un número de muestras suficiente que permita describir adecuadamente el perfil de la curva de concentración plasmática-tiempo. Los tiempos exactos a los que se han de recoger las muestras deben quedar registrados y espaciados lo necesario para que la C_{max} , AUC_t y la constante de eliminación puedan ser estimadas con exactitud. Para la mayoría de fármacos se recomiendan extraer como mínimo 12 muestras (Health Canada, 2012), siendo de 12 a 18 muestras lo recomendado, aunque dependerá de la velocidad de absorción y eliminación del principio activo y del tipo de liberación de la forma farmacéutica (U.S., 2003).

Para poder estimar de forma fiable la C_{max} , ha de realizarse un muestreo frecuente alrededor de T_{max} , evitando que el T_{max} sea el primer valor de la curva después de la administración. Según la Guía estadounidense, si se comienzan a extraer muestras entre los 5 y 15 minutos tras la administración y se extraen de 2 a 5 durante la primera hora, se considera suficiente para poder evaluar la concentración pico de forma adecuada, aunque la concentración más alta sea el primer valor obtenido (U.S., 2003).

El muestreo debe ser lo suficientemente extenso para que permita una estimación fiable de la magnitud de la exposición, cuantificado mediante $AUC_{(0-t)}$, por lo que el $AUC_{(0-t)}$ ha de cubrir al menos el 80% de $AUC_{(0-\infty)}$. Al menos 3 o 4 muestras son necesarias en la fase final log-lineal para estimar de forma fiable la constante de eliminación necesaria para el cálculo de $AUC_{(0-\infty)}$. El AUC truncado a las 72 horas ($AUC_{(0-72h)}$) puede utilizarse como alternativa a $AUC_{(0-t)}$ en fármacos de larga semivida, por lo que un muestreo más allá de las 72h no se considera necesario independientemente de la semivida del fármaco en productos de liberación inmediata.

En estudios de dosis múltiple, la muestra pre-dosis debe ser extraída en los 5 minutos anteriores a la administración y la última muestra dentro de los últimos 10 minutos del intervalo de dosificación para asegurar una correcta determinación de $AUC_{(0-t)}$ y confirmar que el estudio se ha realizado en estado estacionario.

Características a investigar

Parámetros farmacocinéticos

Para poder establecer bioequivalencia, es necesario medir ciertos parámetros farmacocinéticos obtenidos de fluidos biológicos como por ejemplo sangre, plasma o suero, que reflejan la liberación del producto a la circulación sistémica, dado que su medición en el lugar de acción no es posible. Los parámetros farmacocinéticos han de ser calculados mediante métodos no compartimentales.

En estudios cuyo objetivo es establecer bioequivalencia tras la administración de una dosis única se debe determinar: $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-\infty)}$, área residual, C_{max} y T_{max} , y otros parámetros adicionales como son λ_z y $t_{1/2}$. En determinados casos, donde el inicio de la acción es importante por razones de eficacia (analgésicos) o de seguridad (antihipertensivos), la guía estadounidense recomienda usar áreas parciales de AUC truncadas a la mediana de T_{max} de la referencia (U.S., 2003), pero este criterio no se utiliza en la Unión Europea.

En estudios donde hay muestreo a las 72 horas y éste es cuantificable, es suficiente con determinar $AUC_{(0-72h)}$ no siendo necesario determinar $AUC_{(0-\infty)}$ ni el área residual.

Las variables primarias para evaluar bioequivalencia de los productos son C_{max} y AUC.

Fármaco padre o metabolitos

En principio, la evaluación de bioequivalencia debe basarse en cuantificar las concentraciones del compuesto principal ya que por lo general es más sensible para detectar diferencias entre las formulaciones en la velocidad de absorción mediante C_{max} que su metabolito.

Se aplica incluso para aquellos profármacos inactivos (aquellos que contribuyen poco o nada a la eficacia clínica), siendo innecesaria la medición del metabolito. Sin embargo, determinados profármacos que presentan concentraciones bajas en plasma y que son rápidamente eliminados resultan complicados de cuantificar por lo que se permite demostrar bioequivalencia midiendo el metabolito activo principal sin la medición del fármaco padre. Incluso se prefiere medir un metabolito inactivo si se forma antes que el metabolito activo (EMA, 2010). Por el contrario, la guía estadounidense requiere medir el metabolito si éste contribuye significativamente en cuestiones de seguridad o eficacia, o si se ha generado como resultado del metabolismo presistémico (U.S., 2014).

La determinación de un metabolito inactivo como variable subrogada de un fármaco padre activo no se recomienda y sólo puede justificarse de forma excepcional por problemas en la

sensibilidad en el método bioanalítico, siendo necesario demostrar que la exposición del metabolito refleja la exposición del fármaco padre y que la formación del metabolito no está saturada a dosis terapéuticas.

Enantiómeros

Por lo general se acepta el uso de métodos bioanalíticos no quirales. Sin embargo, los enantiómeros deben medirse si se cumplen las siguientes condiciones o alguna de estas condiciones son desconocidas:

1. Si presentan diferente farmacocinética.
2. Si presentan notables diferencias farmacodinámicas.
3. Si el cociente entre el AUC de los enantiómeros se modifica al variar la velocidad de absorción.

Si uno de los enantiómeros es farmacológicamente activo y el otro es inactivo o presenta una baja contribución a su actividad, será suficiente con demostrar bioequivalencia únicamente en el enantiómero activo (EMA, 2010). Sin embargo, cuando los enantiómeros tienen una exposición semejante, los métodos no quirales también pueden dar resultados sesgados (García-Arieta A et al., 2005). Además si se cumple la tercera condición de la guía europea siempre se ha de cumplir la primera ya que al cambiar la velocidad de administración se modifica la farmacocinética (Torrado et al., 2010).

La guía estadounidense añade un cuarto requisito que limita la cuantificación de enantiómeros a los casos donde la eficacia y seguridad se deben al enantiómero minoritario (U.S., 2003).

Análisis de los datos

Los parámetros farmacocinéticos por lo general no deben ser ajustados por las diferencias observadas entre el contenido del lote test y del lote de la referencia. Sin embargo, en condiciones excepcionales donde el contenido difiera más de un 5% podría aceptarse una corrección por contenido siempre que haya quedado especificado previamente en el protocolo (EMA, 2010).

Idealmente, todos los sujetos deben ser incluidos en el análisis estadístico. Sin embargo, en un diseño cruzado los sujetos que no presenten datos evaluables para ambos productos no deben ser incluidos. Todos los sujetos tratados deben ser analizados, no se permite incluir sujetos extra cuyas muestras no se analizan en caso de que no haya pérdidas entre los sujetos iniciales. Para

evitar sesgar los resultados obtenidos es necesario que todos los sujetos sean tratados estadísticamente de acuerdo a las mismas normas y éstas han de ser independientes del tratamiento recibido o de los resultados obtenidos. En consecuencia, la decisión de excluir a un sujeto del análisis estadístico ha de hacerse previo al análisis de los datos. En principio cualquier razón de exclusión es válida y ha de estar pre-especificada en el protocolo. Sin embargo, la exclusión de los datos debe evitarse ya que el poder del estudio se verá reducido y son necesarios un mínimo de 12 sujetos evaluables. Ejemplos de razones para excluir los resultados de un periodo en particular son eventos tales como los vómitos o diarrea que pueden hacer que las concentraciones no sean fiables.

La exclusión de los datos no puede ser aceptada únicamente en base a razones farmacocinéticas porque es imposible distinguir el efecto de la formulación de otros efectos que influyen en la farmacocinética (EMA, 2010). Las excepciones serían:

1. Un sujeto con ausencia de concentraciones medibles o concentraciones plasmáticas muy bajas para el producto de referencia (menos del 5% del AUC del resto de los sujetos). Sólo será aceptado de forma excepcional y cuestiona la validez del estudio. Podría ser evitado comprobando que el sujeto ha ingerido la medicación.
2. Sujetos con concentraciones basales mayores del 5% de la C_{max} . Estos datos deben ser excluidos, debido a un efecto de arrastre que podría evitarse con un periodo de lavado más amplio.

Los sujetos cuyos valores de $AUC_{(0-t)}$ no incluyan al menos el 80% de $AUC_{(0-\infty)}$ no deben excluirse del análisis estadístico, pero si sucediera en más del 20% de las observaciones la validez del estudio sería cuestionable.

En estudios para determinar bioequivalencia tras una dosis única, los parámetros primarios a analizar son $AUC_{(0-t)}$ o $AUC_{(0-72h)}$ y C_{max} . La evaluación de bioequivalencia se basa en un intervalo de confianza al 90% para el cociente de las medias geométricas poblacionales (test/referencia) para ciertos parámetros. Este método es equivalente a dos pruebas unilaterales con la hipótesis nula de bioinequivalencia en el 5% de nivel de significación (Schuirmann, 1987). Por tanto, se entiende que una formulación muestra bioequivalencia si el intervalo de confianza se encuentra dentro de los límites de aceptación, bioinequivalencia cuando el intervalo de confianza está completamente fuera de los límites de aceptación y no bioequivalencia cuando sólo una parte del intervalo entra dentro del intervalo por lo que es posible que un estudio con mayor poder estadístico fuera capaz de demostrar bioequivalencia (García-Arieta, 2010).

Los parámetros farmacocinéticos deben ser analizados mediante un ANOVA y los datos deben ser transformados logarítmicamente previamente al análisis. El intervalo de confianza obtenido en escala logarítmica ha de ser transformado a la escala original para obtener el intervalo del cociente test/referencia.

El modelo del ANOVA debe estar pre-especificado en el protocolo. El análisis debe tener en cuenta fuentes de variación que se puede suponer que razonablemente tendrán un efecto respuesta. Los términos utilizados en el ANOVA normalmente son la secuencia, sujeto anidado a la secuencia, el periodo y la formulación, considerándolos efectos fijos en la Unión Europea, mientras que en los EE.UU., los sujetos anidados a la secuencia se consideran un efecto aleatorio.

El intervalo al 90% para el cociente test/referencia ha de estar contenido dentro del intervalo de aceptación 80.00-125.00%. En la Unión europea para productos con estrecho margen terapéutico, el IC de AUC debe ser más estrecho (90.00-111.00%) y puede estrecharse igualmente para C_{max} si C_{max} es relevante para la seguridad y eficacia. En Estados Unidos el intervalo de aceptación se estrecha en función de la variabilidad intraindividual obtenida en un diseño replicado. En la Unión Europea para productos altamente variables el intervalo de aceptación para C_{max} puede ser más ancho en función de la variabilidad intraindividual estimada en un diseño replicado hasta un máximo del 50% que equivale a un rango máximo de aceptación de 69.84-143.19% (Boddy et al., 1995; Tothfalusi et al., 2009).

Se consideran productos altamente variables aquellos donde la variabilidad intraindividual es mayor del 30% (Blume y Midha, 1993; Diliberti, 2004; Midha et al., 2005). En Estados Unidos el intervalo de aceptación también se amplía para los fármacos altamente variables (Davit et al., 2013).

En la Unión Europea, si se espera una rápida liberación del producto porque es clínicamente relevante el momento de inicio de la acción o por motivos de seguridad, no deberían existir diferencias aparentes en la mediana de T_{max} ni en la variabilidad entre el producto test y de la referencia. Por el contrario, en los EE.UU. se utiliza el IC al 90% de la AUC truncado al T_{max} del producto de referencia.

El utilizar efectos fijos o aleatorios no es importante para el diseño estándar cruzado de dos periodos y dos secuencias, ya que si no se dispone de datos evaluables de uno de los periodos el sujeto no ha de ser incluido, por lo que el resultado es independiente del modelo elegido, pero no ocurre lo mismo en los diseños replicados (EMA, 2015a).

Valores extremos o outliers

En la Unión Europea no se pueden excluir los valores extremos aunque en el caso de los productos altamente variables con un diseño replicado, hay que descartar que la estimación de la variabilidad que se utiliza para ampliar los márgenes de aceptación esté inflada por la presencia de outliers. En este caso habría que ampliar los márgenes por la variabilidad obtenida sin los valores extremos (EMA, 2010).

1.2. Estudios de bioequivalencia para formas de liberación modificada: parches transdérmicos

Las formulaciones de liberación modificada son aquellas en las que la velocidad y/o lugar de liberación del principio activo son diferentes de las que presentan las formulaciones de liberación inmediata administradas por la misma ruta. Esto se consigue variando el diseño de las formulaciones o la forma de fabricación. El desarrollo de un nuevo sistema de liberación modificada debe basarse en una necesidad médica bien definida, como podría ser la mejora de la adhesión al tratamiento o para mejorar el perfil de seguridad. La sustancia activa debe producir el efecto clínico deseado con un perfil farmacocinético diferente del que presenta en la formulación de liberación inmediata. De esta forma, se obtienen ventajas: la reducción de las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas, la menor frecuencia de administración lo que favorece el cumplimiento terapéutico o el empleo de una ruta diferente a la vía oral (EMA, 2014b).

Se define como parche transdérmico o sistemas de liberación transdérmica a una preparación farmacéutica flexible de tamaño variable que contiene uno o varios principios activos para aplicar sobre la piel intacta y conseguir concentraciones sistémicas. Existen principalmente dos tipos clasificados según la forma de liberación del fármaco. El sistema matricial, donde el fármaco se libera por difusión desde la matriz, y los sistemas con reservorio, los cuales contienen al fármaco en un compartimento donde la liberación es controlada por una membrana. A diferencia de otras formas farmacéuticas, los parches transdérmicos no necesitan contener la misma cantidad de principio activo. En el caso de los parches genéricos se debe liberar la misma cantidad de principio activo por unidad de tiempo que el parche de referencia. Por tanto, a diferencia de la definición tradicional de genérico, la cantidad total de principio activo puede variar. Para concluir equivalencia, es necesario demostrar adhesión comparable o en su defecto mejores propiedades de adhesión y bioequivalencia. Se aconseja investigar la adhesión en primer lugar, ya que una adhesión inferior podría invalidar los estudios farmacocinéticos. Las características de la piel de los sujetos del estudio deben ser similares a las de la población a la que esté destinado el parche por lo que implica que diferentes estudios podrían ser necesarios para evaluar la adhesión y las características farmacocinéticas.

Por lo general, son necesarios dos estudios para demostrar bioequivalencia, uno en dosis única y otro en dosis múltiple comparando el producto test con el de referencia. El estudio en dosis múltiple es necesario a no ser que el estudio en dosis única se haya realizado con la dosis más alta y haya demostrado que el $AUC_{(0-t)}$ medio tras la primera dosis cubre más del 90% del $AUC_{(0-\infty)}$ medio para el test y la referencia y, por tanto, se espera poca acumulación. El diseño del

estudio, incluyendo el sitio de aplicación, debe estar estandarizado y ser el mismo tanto para el test como la referencia. En los diseños cruzados los parches se aplican en un sitio diferente de la misma región por motivos de seguridad.

Desde el punto de vista de seguridad local el producto test debe demostrar similar o menor grado de irritación local, fototoxicidad y sensibilización que el producto de referencia. Por lo que para asegurar equivalencia en términos de seguridad se requerirán estudios que lo demuestren a no ser que quede justificado como es el caso de los parches con una composición cuantitativa y cualitativa similar a la del producto de referencia.

Cuando se solicite autorización para comercializar diferentes dosis, el estudio de bioequivalencia debe llevarse a cabo con la dosis mayor o más sensible siempre que la composición sea la misma para todas las dosis, las dosis sean proporcionales al área de la superficie efectiva y la dosis menor pueda ser considerada como un “área parcial” de la dosis más alta, siempre y cuando las distintas dosis presenten perfiles de disolución similares. En caso de problemas de seguridad/tolerabilidad con la dosis más alta, el uso de una dosis menor es aceptable para formulaciones que sean proporcionales en tamaño.

La bioequivalencia debe evaluarse usando los mismos parámetros farmacocinéticos y estadísticos que para otras formulaciones de liberación prolongada.

Los parámetros a calcular en estudios de dosis única son $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-\infty)}$, el área residual, C_{max} , T_{max} y cuando fuera relevante $_{parcial}AUC$. No se acepta truncar a las 72 h ya que no son productos de liberación inmediata. Generalmente los parámetros primarios con los que se define la bioequivalencia son $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-\infty)}$, C_{max} , y $_{parcial}AUC$ si fuera relevante.

En estudios en dosis múltiple se debe determinar $AUC_{(0-t)}$, $T_{max,ss}$, $C_{max,ss}$, $C_{\tau,ss}$ y la fluctuación $[(C_{max}-C_{min})/C_{av}]$. Los parámetros primarios con los que se decide la bioequivalencia son $AUC_{(0-t)}$, $C_{max,ss}$ y $C_{\tau,ss}$.

2. INTERACCIÓN SEXO POR FORMULACIÓN EN ESTUDIOS DE BIOEQUIVALENCIA

2.1. Infrarrepresentación de las mujeres en ensayos clínicos

Durante muchos años se asumía que los resultados obtenidos de una investigación realizada en hombres podían extrapolarse a mujeres y, por tanto, no había necesidad de incluir mujeres en los ensayos clínicos porque se aceptaba que las mujeres no se diferenciaban de los hombres excepto en lo relativo a los órganos reproductivos (Health Canada, 2013). Sin embargo, la evidencia científica nos muestra que existen diferencias significativas tanto desde el punto de vista farmacocinético como farmacodinámico que deben ser identificadas y analizadas porque podrían afectar a la seguridad y a la eficacia de los fármacos (Thurmann y Hompesch, 1998; Anderson GD, 2005). Es importante detectar estas diferencias para evitar que fármacos ya comercializados tengan que ser retirados del mercado, por problemas de seguridad en las mujeres (U.S., 2010) como sucedió con la cerivastatina o el mibefradil (Muck, 2000; Schwartz, 2003).

Las recomendaciones actuales abogan por la inclusión de un número representativo de mujeres en etapas tempranas del desarrollo del medicamento (Parekh et al., 2011) pero no siempre ha sido así (U.S., FDA Needs to Ensure More Study of Gender Differences in Prescription drug Testing, 1992). A raíz de la tragedia de la talidomida que afectó a miles de mujeres embarazadas en la década de los sesenta, la participación de las mujeres tomó un enfoque más conservador (Vargesson, 2015). La restricción de la participación de las mujeres en edad fértil (U.S., 1977) fue retirada en 1993 por la agencia reguladora estadounidense (U.S., 1993), pero a pesar de ello a día de hoy las mujeres siguen estando infrarrepresentadas (Pinnow et al., 2009), especialmente durante el embarazo o la lactancia (Health Canada, 2013).

De forma análoga, la mayoría de los estudios de bioequivalencia se vienen realizando típicamente en voluntarios sanos varones (Laguna-Goya y de Andres-Trelles, 2014), incluso aunque el fármaco tenga indicación exclusiva en mujeres, y los resultados obtenidos en hombres se extrapolan a la población a la que esté dirigida el genérico (Koren, 2013). Es especialmente notable en multinacionales que subcontratan la realización de los estudios en países con diferencias culturales en temas de género, donde el rol de la mujer es diferente al del hombre, y ello afecta a la participación de las mujeres en tareas fuera del hogar (Mc Gilveray, 2011).

Existen varios motivos que explican la infrarrepresentación de las mujeres en los estudios de bioequivalencia. Uno de ellos es la mayor probabilidad de desarrollar reacciones adversas

medicamentosas debido a que por lo general presentan menor peso que los hombres, por lo que al administrarse la misma dosis se alcanzarán concentraciones plasmáticas mayores y por tanto existe mayor riesgo de sufrir una reacción adversa y de abandonar el estudio (Zopf et al., 2008). Por ello, el ajuste de dosis en función de la superficie corporal es el factor más importante (Beierle et al., 1999) que condiciona cambios en la biodisponibilidad. En general, las mujeres presentan un riesgo incrementado de 1.5 a 1.7 veces en comparación con hombres de sufrir una reacción adversa (Koren et al., 2013b). Además, incluir mujeres es considerado más problemático ya que pueden quedarse embarazadas, aunque no debería representar un problema porque los estudios de bioequivalencia son por lo general cortos (Koren, 2013).

Otra posible razón estaría relacionada con la asunción de que la variabilidad intraindividual es mayor en mujeres que en hombres (Mc Gilveray, 2011). Un ejemplo de fármaco que muestra diferencias en la variabilidad entre hombres y mujeres es el alprazolam, donde dicha variabilidad intraindividual es hasta 6 veces mayor en mujeres (Koren, 2013). Incluso en una misma mujer dependiendo del momento en que se lleve a cabo el ensayo de bioequivalencia se pueden encontrar diferencias debidas a fluctuaciones del estado hormonal, por lo que se recomienda que las mujeres se encuentren en la misma fase del ciclo menstrual cuando se compara el producto test con la referencia (Koren et al., 2013a). La principal razón que explica el problema anterior estaría relacionada con cambios en el volumen de distribución. Sin embargo, en una revisión llevada a cabo por la FDA de un total de 20 estudios realizados en mujeres en diferentes fases del ciclo no encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.1$) en la variabilidad intraindividual en la mayoría de los fármacos estudiados y en los 7 estudios que encontraron diferencias, únicamente 4 de ellos incluían parámetros determinantes para la demostración de bioequivalencia (Chen et al., 1995). Además si el fármaco a estudiar presenta mayor variabilidad intraindividual, será necesario un tamaño muestral mayor para poder demostrar bioequivalencia, por lo que un mayor número de sujetos deben ser reclutados (Chow y Wang, 2001; Hauck et al., 2001; Hauschke, 2002); esto puede no ser ético por poner en riesgo a más individuos de forma innecesaria. Cuando el CV intrasujeto es inferior al 15% con 15-20 sujetos podría ser suficiente para demostrar bioequivalencia, mientras que si es mayor del 30%, sería necesarios unos 40 sujetos.

2.3. Diferencias entre hombres y mujeres

Es importante comprender los factores subyacentes que contribuyen a las diferencias observadas entre hombres y mujeres en la prevalencia, diagnóstico, severidad y pronóstico de

las enfermedades (Pinn, 2003). Habría que distinguir el término “sexo” del término “género”. El concepto “sexo” hace referencia a las diferencias cromosómicas que condicionan diferencias biológicas y el concepto “género” a la significación cultural que influye en el estilo de vida y de comportamiento (Wizemann y Pardue, 2001). Estas diferencias entre ambos sexos podrían ser responsables de un comportamiento farmacocinético y farmacodinámico que influyera en la respuesta a ciertos fármacos. Por tanto, es crucial tener en cuenta estas diferencias realizando en etapas tempranas del desarrollo del ensayo clínico un análisis específico por sexo (Liu y Mager, 2016) y determinar si afectan a la eficacia y seguridad de medicamento (Miller, 2001; Woosley, 1998).

Muchas de estas diferencias son debidas al índice de masa corporal que es menor en mujeres y condiciona concentraciones plasmáticas mayores respecto a los hombres, (Parekh et al., 2011) aunque en ocasiones estas diferencias persisten tras el ajuste por peso. Se han descrito diferencias en la composición corporal, las mujeres presentan mayor cantidad de tejido adiposo en todas las etapas de la vida lo que influye en el volumen de distribución en fármacos lipofílicos (Greenblatt et al., 1982) como el caso del diazepam (Ochs et al., 1981).

Las principales diferencias en cuanto al género en la biodisponibilidad oral son causadas por las diferencias en cuanto a la actividad de las principales enzimas metabólicas, que condicionan el proceso de aclaramiento de los fármacos. Por ejemplo, la actividad enzimática de la alcohol deshidrogenasa gástrica (Frezza et al., 1990) o diferencias relacionadas con el metabolismo oxidativo mediado por el citocromo CYP450 (Gorski et al., 1998; Kates et al., 1981; Krecic-Shepard et al., 2000), concretamente el aclaramiento mediante el CYP3A4 parece ser más rápido en mujeres en comparación con los hombres (Gross et al., 1995; Tanaka, 1999; Fletcher et al., 1994), al contrario de lo que sucede con el CYP2D6 que es más rápido en hombres (Ronfeld R et al., 1997; Hong-Guang y Xiu, 1995). Por ejemplo, el alprazolam presenta un mayor aclaramiento en mujeres que en hombres (Kristjansson, 1991). También se han descrito diferencias en la proteína transportadora de membrana glicoproteína-P (Schuetz et al., 1995) aunque no se han encontrado diferencias entre hombres y mujeres en la unión a proteínas plasmáticas como es el caso de la albúmina (Verbeeck et al., 1984). Respecto al aclaramiento renal, existen diferencias sexuales independientemente del peso por lo que los algoritmos incluyen el factor sexo entre los términos necesarios para el cálculo del aclaramiento de creatinina (Gross et al., 1992; Cockcroft y Gault, 1976).

Los factores determinantes en el proceso de absorción para fármacos de administración oral dependen principalmente de la solubilidad del producto, que condiciona el proceso de

liberación de su forma farmacéutica y ésta dependerá de su pKa. Por tanto, el pH del medio será un factor importante a tener en cuenta especialmente en los procesos de difusión (McGilveray, 2011). Existen diferencias en cuanto al pH gástrico, siendo más ácido en hombres, y en la motilidad gastrointestinal, que es más lenta en mujeres (Lindahl et al., 1997, Walle et al., 1994, Yonkers KA et al., 1992, Datz et al., 1987).

Además, por lo general, existen diferencias en cuanto a los hábitos dietéticos, la dieta de las mujeres es más rica en fibra con menos grasas por lo que podría influir en la absorción de ciertos fármacos (Van Horn et al., 1991, Neville et al., 2012).

Puede existir diferente absorción en hombres o mujeres dependiendo de la formulación, lo que supondría la existencia de interacción sexo por formulación. Teóricamente la interacción sexo por formulación para productos administrados por vía oral puede ser debida a diferencias que existen entre sexos en cuanto a valores del pH, la motilidad, el tiempo de tránsito gastrointestinal, en el metabolismo o eliminación entre las diferentes formulaciones (Chen et al., 2000). También podría sugerirse que en ciertas formulaciones, como son los parches transdérmicos, las mujeres fueran más discriminativas que los hombres para detectar diferencias entre las formulaciones. Existen diferencias en las características de la piel entre hombres y mujeres que podrían ser responsables de las diferencias encontradas en los estudios de bioequivalencia llevados a cabo con parches transdérmicos. El sexo de los voluntarios sería un factor más a tener en cuenta, porque muchas de las diferencias estarían influidas por la edad y por la zona de la piel donde se aplique el parche (Jacobi et al., 2005). Estas diferencias sexuales son notables desde la pubertad y condicionan la susceptibilidad a presentar determinadas enfermedades como el acné, la rosácea o el eccema seborreico que varían su incidencia dependiendo del sexo (Luebberding et al., 2013). La piel es un tejido esteroideogénico encargado de metabolizar hormonas sexuales y responder a ellas. Por ejemplo, la aromatasa presente en la piel se encarga de transformar la testosterona en estradiol en mujeres donde el exceso de testosterona puede producir alopecia androgénica o hirsutismo (Giacomoni et al., 2009). El espesor de la dermis está condicionado por la cantidad de agua y fibras elásticas que contribuyen a su densidad, haciendo que por lo general a todas las edades la piel de los hombres sea más densa que en mujeres (Giacomoni et al., 2009). La pérdida de agua transepidérmica es uno de los parámetros principales para evaluar las características fisiológicas de la piel; es indicativo de la habilidad del estrato córneo para evitar la evaporación del agua y prevenir la permeabilidad de sustancias hidrofóbicas, actuando como una barrera funcional. Esta capacidad es significativamente menor en hombres hasta los 50 años independientemente de la localización. Existe una mayor producción de grasa en hombres de forma estable, debida a los

andrógenos, mientras que en mujeres decrece con la edad. También existen diferencias en el pH ya que en hombres se encuentra por debajo de 5 mientras que en mujeres es mayor de 5, lo que podría influir en la capacidad tamponadora de la piel (Luebberding et al., 2013).

A pesar de la existencia de diferencias farmacocinéticas, rara vez son relevantes desde el punto de vista clínico y sólo en casos excepcionales son responsables de cambios posológicos en función del sexo por razones de seguridad. Un ejemplo sería la recomendación de la FDA en relación al zolpidem (U.S., 2013). Es necesario reducir la dosis al 50% en mujeres porque presentan concentraciones mayores respecto a los hombres y por tanto mayor susceptibilidad a presentar efectos adversos en el sistema nervioso central (Koren et al., 2013b). Algunos autores han descrito cambios en el patrón de prescripción de este fármaco (Norman et al., 2017).

2.3. Interacción sexo por formulación.

El principal argumento a favor de incluir sólo hombres se basa en la teoría de que, aunque existieran diferencias en la biodisponibilidad entre hombres y mujeres, ello no afectaría a la demostración de bioequivalencia porque se comparan dos formulaciones en el mismo individuo que actúa como control de sí mismo para el producto test y referencia, por lo que las diferencias interindividuales no afectarían a las conclusiones del estudio. Por tanto, si existieran diferencias entre las formulaciones serían evidentes independientemente de si participan hombres o mujeres (Koren et al., 2013a). En otras palabras, en un estudio de bioequivalencia la existencia de un comportamiento farmacocinético diferente en hombres y mujeres se analizaría mediante el análisis del factor sexo, pero que haya diferencias entre sexos no implica que la estimación de la bioequivalencia esté sesgada cuando se reclutan solamente sujetos de un sexo o de ambos sexos. Esto se investigaría mediante la interacción sexo por formulación. Esta interacción cuantifica si el efecto formulación depende del sexo, es decir, que por ejemplo un medicamento sea bioequivalente en hombres pero no lo sea en mujeres, o viceversa. O que sea suprabiodisponible en hombres e infrabiodisponible en mujeres y en un estudio con hombres y mujeres en igual proporción resulte bioequivalente.

La figura 1 muestra un ejemplo en el que hombres y mujeres presentan valores medios similares para cualquiera de los dos parámetros farmacocinéticos necesarios para determinar bioequivalencia, C_{max} y AUC_t , tanto para el producto test como para la referencia, por tanto no existirían diferencias en el factor sexo. Además, tanto hombres como mujeres se comportan igual cuando se administra el producto test y referencia, por tanto no existiría interacción sexo por formulación.

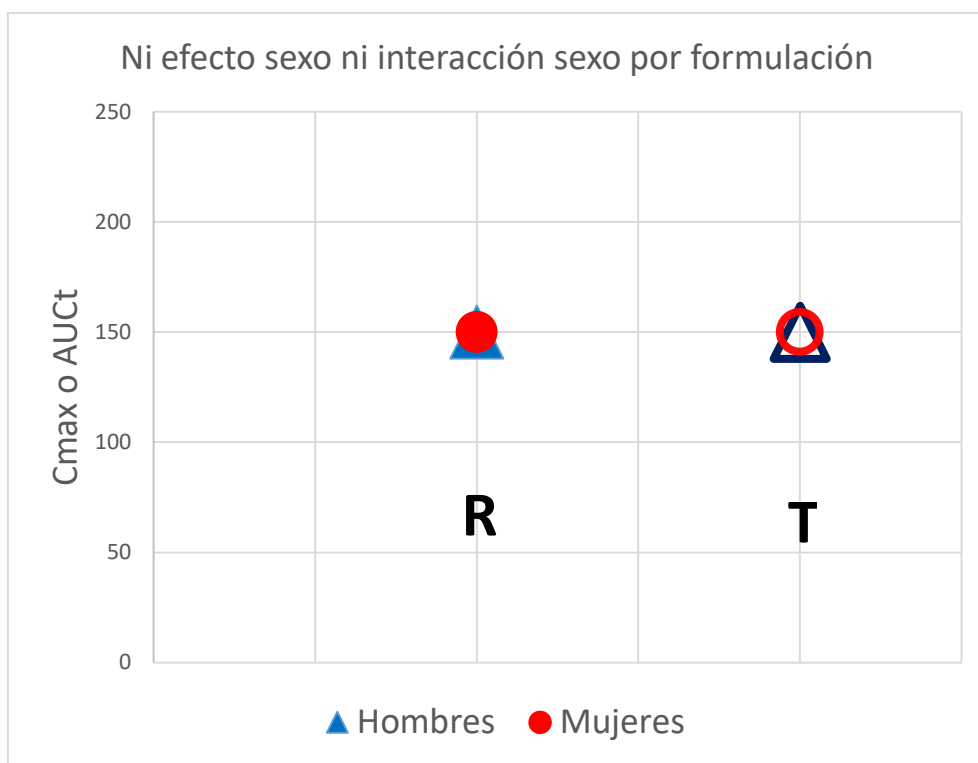


Figura 1. Inexistencia del factor sexo ni de la interacción sexo por formulación.

La figura 2 muestra un comportamiento farmacocinético diferente en hombres y mujeres, siendo más altos los valores medios obtenidos en mujeres tanto para el producto test como para el de referencia, por tanto existen diferencias en el factor sexo. Sin embargo, tanto hombres como mujeres se comportan de forma similar cuando se administra el producto test o el de referencia, en consecuencia no existe interacción sexo por formulación.

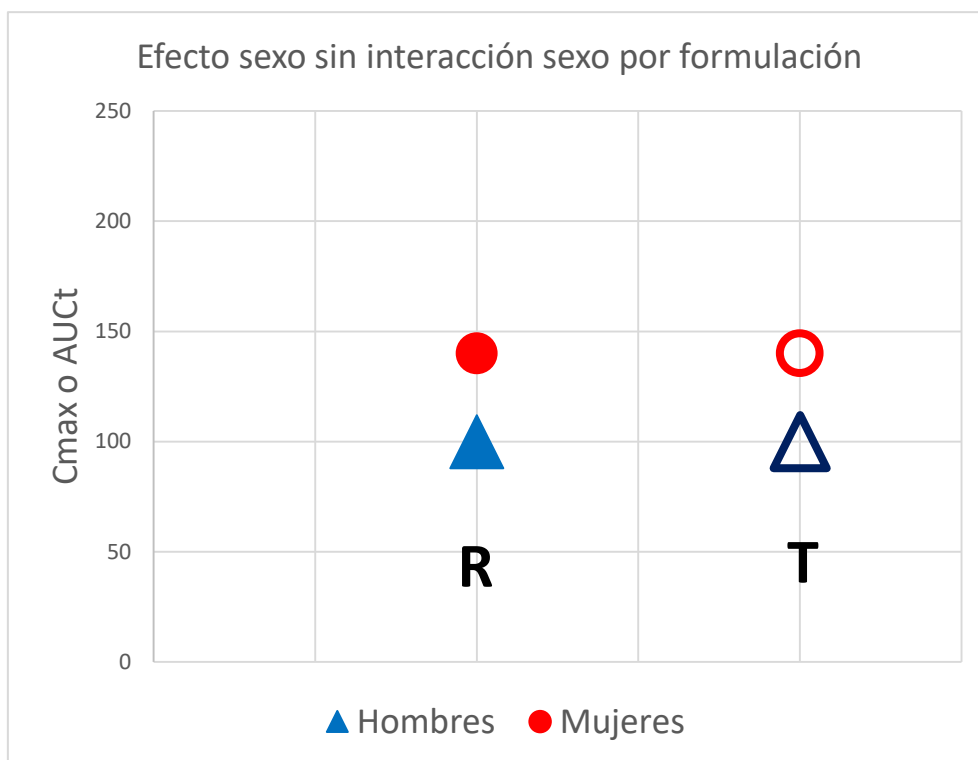


Figura 2. Efecto sexo y sin interacción sexo por formulación.

La figura 3 muestra diferencias en el factor sexo porque las mujeres presentan valores medios más altos que los hombres para ambos productos. Además, las mujeres presentan un comportamiento distinto entre el producto test y el de referencia. El producto test es infrabiodisponible en comparación con el de referencia, por lo que existe interacción sexo por formulación. El test sería bioequivalente en hombres pero no en mujeres.

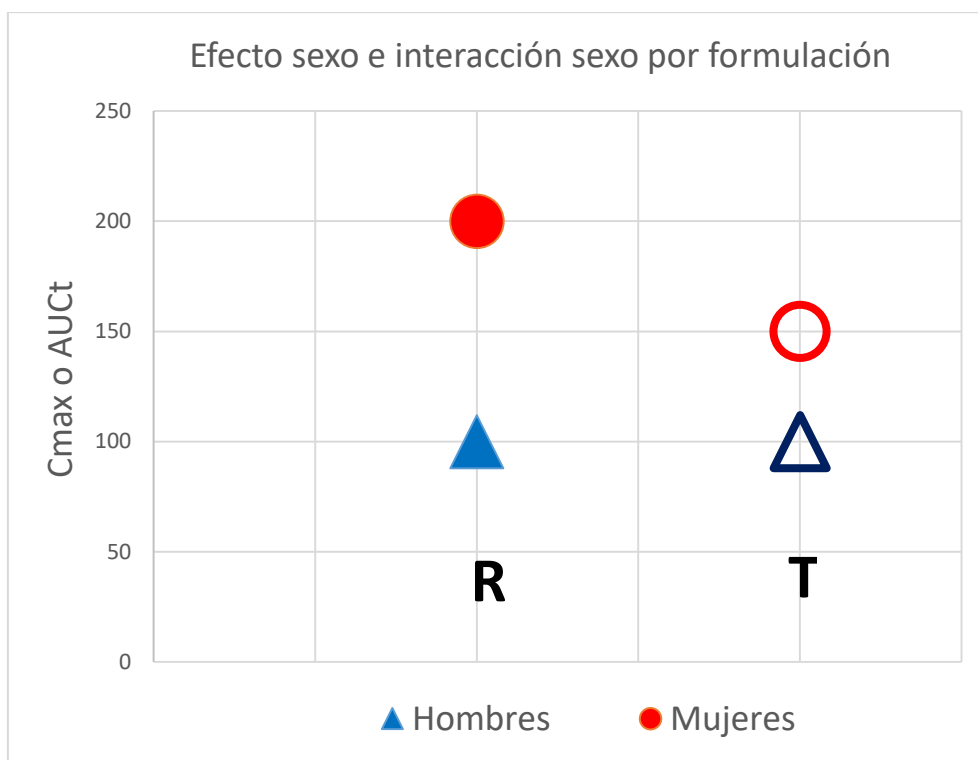


Figura 3. Efecto sexo e interacción sexo por formulación.

La figura 4 muestra que tanto hombres como mujeres presentan concentraciones plasmáticas medias similares si se combinan los datos del test y la referencia. Por tanto, no existe efecto sexo. Sin embargo, cuando se analizan los resultados separadamente para el test y la referencia se ve un efecto sexo que depende de la formulación que se trate. Con la referencia los hombres tienen niveles mayores que las mujeres, y con el test ocurre lo contrario. En un estudio donde hubiera el mismo número de hombres y mujeres se concluiría equivalencia al hacerse la media de los dos grupos de sexo, sin embargo, no serían bioequivalentes en ninguno de los grupos de sujetos que participa en el estudio.

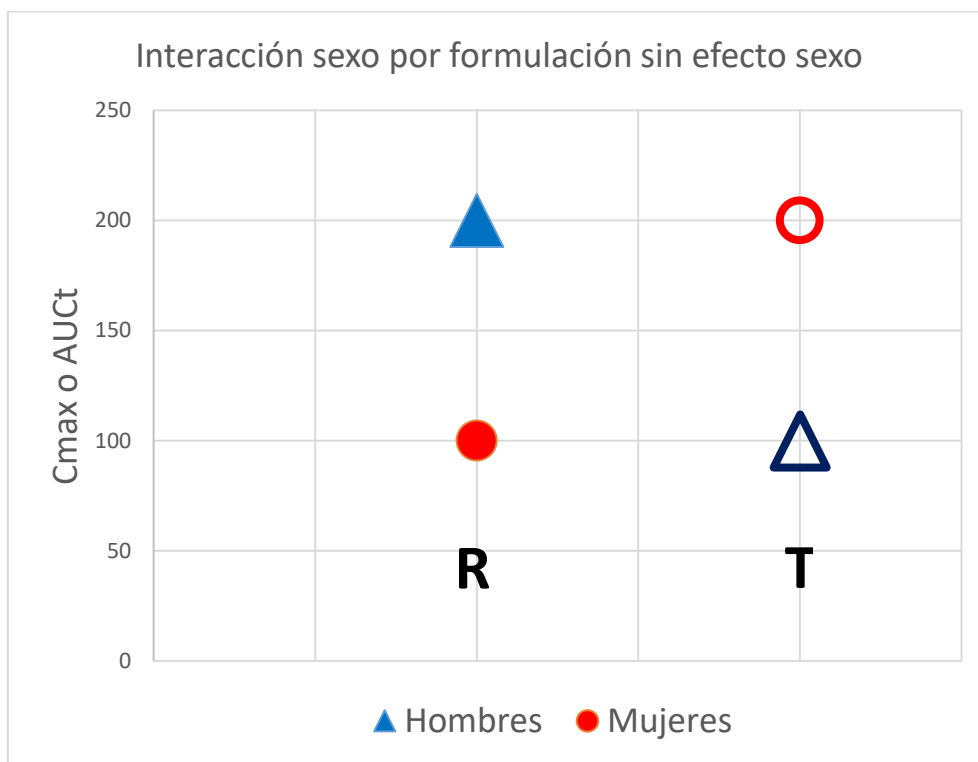


Figura 4. Interacción sexo por formulación sin efecto sexo.

La posible existencia de interacción sexo por formulación implicaría que los resultados obtenidos en los estudios de bioequivalencia (el cociente test/referencia de los parámetros farmacocinéticos necesarios para concluir bioequivalencia) en un sexo no serían similares a los obtenidos en el otro sexo. Por tanto, si existe interacción sexo por formulación, los estudios farmacocinéticos realizados en hombres y mujeres no son interpretables dado que la media de los resultados no representa a ninguno de los grupos (hombres o mujeres). Por tanto, este problema no se solucionaría haciendo estudios donde se recluten hombres y mujeres sino demostrando bioequivalencia por separado en hombres y mujeres.

En las guías europea y canadiense los sujetos pueden pertenecer a cualquiera de los dos sexos (es decir, pueden ser todos hombres, todos mujeres o de ambos sexos) siempre teniendo en cuenta el riesgo potencial de mujeres en edad fértil (EMA, 2010; Health Canada, 2012). Estas guías asumen que en los estudios de bioequivalencia los resultados obtenidos en uno de los sexos se pueden extrapolar al otro sexo asumiendo que la interacción sexo por formulación no existe y que cuando se detecta es un artefacto. Por ello, los estudios realizados únicamente en hombres son aceptados. Por el contrario, la FDA recomienda que los sujetos participantes deben ser representativos de la población general, teniendo en cuenta la edad, raza y sexo, por lo que recomiendan incluir una proporción similar de hombres y mujeres (U.S., 2003), por tanto hombres y mujeres deben participar a no ser que hubiera una razón específica para excluir uno de los sexos porque la indicación sea exclusiva en uno de los sexos (por ejemplo anticonceptivos) o por razones de seguridad (U.S., 2014).

En cualquier caso, el reclutamiento de sujetos de ambos sexos no resolvería el problema ya que si la interacción sexo por formulación existiese, sería necesario demostrar bioequivalencia en cada grupo de sexo de forma independiente y ello haría necesario cambiar los requisitos legales actuales para establecer bioequivalencia en la Unión Europea, Canadá y Estados Unidos.

Anteriormente, el departamento encargado de evaluar genéricos de la FDA (Center for Drug Evaluation and Research, CDER) proporcionaba orientación específica para las solicitudes individuales sobre la realización de un estudio de bioequivalencia con un producto determinado, indicando la metodología más apropiada para poder generar la evidencia necesaria para respaldar la aprobación. Esta información, al ser concreta de un producto, no quedaba recogida en la guía de bioequivalencia e implicaba que esa información estaba disponible exclusivamente para el solicitante sin poderse beneficiar el resto de promotores. Con el aumento de las solicitudes en los últimos años, tanto la FDA (U.S., 2010) como la EMA (EMA, 2013) disponen de guías que desarrollan recomendaciones específicas de los productos que son actualizadas

periódicamente. Por ejemplo, ciertos productos como son los fármacos para el tratamiento de la disfunción eréctil (por ejemplo tadalafilo) requieren incluir exclusivamente hombres (U.S., 2017) en Estados Unidos; sin embargo, en la guía europea no se hace referencia al género de los sujetos, por lo que podrían ser realizados sólo en mujeres (EMA, 2010).

El modelo estadístico para determinar bioequivalencia consiste en un ANOVA donde se agrupan diferentes factores de variación que se supone que razonablemente tendrán un efecto variable en la respuesta. Los términos utilizados en el modelo de ANOVA clásico son secuencia, sujeto (secuencia), periodo y formulación. Se agrupan en variables interindividuales (secuencia y secuencia*voluntario) e intraindividuales (formulación, periodo y error inexplicado). El modelo de ANOVA necesario para investigar la existencia de interacción sexo por formulación, es decir si el efecto de la formulación depende del sexo, fue descrito por Chen y cols. (2000). Este modelo incluye las variables secuencia, sexo, secuencia*sexo, sujeto (secuencia*sexo), periodo, formulación y sexo*formulación.

Publicaciones relacionadas con diferencias farmacocinéticas entre hombres y mujeres existen muchas, pero que traten la interacción sexo por formulación en estudios de bioequivalencia son muy escasas.

Hasta el momento existen datos limitados que sugieran la existencia de interacción sexo por formulación en los estudios de bioequivalencia. La mejor evidencia disponible hasta el momento corresponde a Chen y cols. (2000), los cuales publicaron un análisis retrospectivo de todos los estudios presentados a la FDA entre 1977 y 1995 en los que al menos participaron 6 hombres y 6 mujeres. Consideraron significativa la interacción sexo por formulación si el valor de la p es menor o igual a 0.05 para el modelo de ANOVA anteriormente descrito o como señal de interacción sexo por formulación cuando las diferencias del cociente entre hombres y mujeres eran iguales o mayores al 20%, debido a que el pequeño tamaño de los estudios puede imposibilitar su detección desde el punto de vista estadístico. Analizaron un total de 26 estudios de bioequivalencia con 94 datos (47 para C_{max} y 47 para AUC). En el 13% de los datos (19% de C_{max} y 6% de AUC), que correspondían al 35% de los estudios, aparecían diferencias mayores del 20% para el cociente test/referencia en los parámetros farmacocinéticos entre hombres y mujeres. Desde un punto de vista estadístico, la interacción sexo por formulación fue significativa sólo en 2 datos de AUC y para 4 de C_{max} de 3 estudios (12% del total de los estudios). Los resultados sugieren que la existencia de interacción sexo por formulación puede existir, aunque es poco frecuente. Los valores obtenidos de estudios donde el número de sujetos es menor de 12 son poco creíbles. De hecho, estudios con menos de 12 sujetos no son considerados

válidos para demostrar bioequivalencia. Por tanto, sus observaciones han de tomarse con precaución porque en sólo uno de los 8 estudios donde las diferencias eran mayores del 20% para las diferencias de hombres y mujeres había más de 12 mujeres y hombres por grupo de sexo, y el producto investigado corresponde a un parche transdérmico de nitroglicerina.

Recientemente, Ibarra et al. (2016) publicaron la existencia de interacción sexo por formulación en comprimidos de efavirenz 600 mg. Realizaron un estudio de bioequivalencia cruzado aleatorizado de 2 secuencias y 2 periodos donde participaron 14 voluntarios sanos, 8 mujeres y 6 hombres. La medicación fue administrada a las 9 pm, dos horas después de haber ingerido una cena estandarizada. Tras analizar los datos mediante el modelo de ANOVA clásico, el cociente para C_{max} era 70,5% en hombres y 107% en mujeres, y por tanto existía una diferencia de 36.04% para la cociente T/R de mujeres vs hombres, exagerada por los autores mediante su expresión en términos relativos hasta un 52%. Concluyen afirmando que los hombres son más discriminativos para detectar diferencias en los comprimidos de efavirenz porque presentan un vaciado gastrointestinal más acelerado y por tanto su situación es similar a estar en ayunas.

Posteriormente Ibarra et al. (2017), revisaron 11 estudios de bioequivalencia con diseño aleatorizado de 2 secuencias y 2 periodos, cruzado, que incluían al menos 6 sujetos por grupo de sexo. Detectaron diferencias entre hombres y mujeres mayores del 20% para el cociente test/referencia en 4 estudios (3 C_{max} y 1 AUC) con otros productos, pero sólo uno de ellos (9%) incluía más de 12 sujetos por grupo de sexo (Ibarra et al., 2017).

Ashiru et al. (2008), observaron diferencias farmacocinéticas entre hombres y mujeres en la cantidad de ranitidina excretada en orina de 24 h tras la administración de una solución de 150 mg de ranitidina con diferentes cantidades de polietilenglicol (PEG) 400. Observaron que todas las dosis de PEG 400 aumentaban la biodisponibilidad de ranitidina oral en hombres (desde 6% a un 63%) siendo más acusado con la dosis de 0.75 g de PEG. No sucedía lo mismo con las mujeres, donde la biodisponibilidad estaba reducida. Sin embargo, este estudio es cuestionable dado el escaso tamaño muestral con 6 hombres y 6 mujeres (Ashiru et al., 2008).

Es frecuente encontrar en la literatura ejemplos en los que se confunde el efecto sexo con la interacción sexo por formulación, por ejemplo, Koren et al. (2013) analizaron si existían diferencias entre hombres y mujeres en la farmacocinética para una formulación de liberación retardada que contiene doxilamina y piridoxina (Diclectina® vs Diclegis®). Este producto está indicado para el tratamiento de las náuseas y vómitos durante el embarazo, por tanto los estudios de eficacia y seguridad previos a su comercialización fueron realizados exclusivamente en mujeres en edad fértil. Estos autores concluyen, por el hecho de que existan diferencias entre

hombres y mujeres en la farmacocinética de estos fármacos, que los resultados de los estudios de bioequivalencia que recluten solo hombres o una mezcla de hombres y mujeres no se deben extrapolar a las mujeres, por lo que están confundiendo el efecto sexo con la interacción sexo por formulación (Koren G et al., 2013).

También es frecuente encontrar estudios de bioequivalencia donde se investiga el efecto sexo sin investigar la interacción sexo por formulación. En algunos casos cuando se encuentran diferencias entre sexos, normalizando por peso corporal, el efecto del sexo deja de ser significativo (Almeida et al., 2005).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN

La existencia de interacción sexo por formulación en los estudios de bioequivalencia implicaría que para poder autorizar un genérico sería necesario demostrar bioequivalencia de forma separada en hombres y mujeres. Lo que significaría que sería necesario modificar las guías vigentes y, por tanto, se duplicaría el coste del desarrollo clínico.

Hasta el momento se han publicado un número muy limitado de estudios de bioequivalencia donde se detecte interacción sexo por formulación. La mayoría de estos estudios presentan un tamaño muestral menor de 12 sujetos por grupo de sexo, por lo que las conclusiones obtenidas no parecen fiables, ya que se necesitan al menos 12 sujetos para considerar válido un estudio de bioequivalencia. Este limitado número de estudios podrían ser casos extremos en la distribución que sigue la interacción sexo por formulación donde no hay diferencias, pero que se publican debido al sesgo de publicación. Por tanto, se publicarían solamente estudios con resultados estadísticamente significativos. Por otro lado, sería posible que existiera interacción sexo por formulación en muchos más estudios pero que no se detectara porque no se investiga o porque el tamaño de muestra de los estudios de bioequivalencia no está calculado para detectarla, sino para demostrar bioequivalencia, por lo que el hecho de no detectarla no implica que no exista.

Dada la limitada evidencia disponible, es necesario analizar un número mayor de estudios. Por ello hemos investigado la existencia de interacción sexo por formulación en todos los estudios de bioequivalencia realizados en nuestro hospital como parte central de este trabajo, consiguiendo la mayor recopilación que existe hasta el momento de estudios realizados en hombres y mujeres que investiga la interacción sexo por formulación.

Así mismo se ha investigado el caso concreto del efavirenz dado que recientemente se ha publicado un estudio donde los autores afirmaban encontrar diferencias entre hombres y mujeres de hasta un 52% en C_{max} y, por tanto, sugerían la existencia de interacción sexo por formulación en comprimidos de efavirenz (Ibarra et al., 2016). Para ello hemos aprovechado dos estudios de bioequivalencia, uno piloto y otro pivotal, realizados en nuestro centro con comprimidos de efavirenz. Al investigarse la misma formulación en ambos estudios, se puede comprobar si la interacción sexo por formulación que pudiera existir se confirma o, por el contrario, es un artefacto estadístico.

Además, hemos investigado la existencia de interacción en los estudios de bioequivalencia presentados en la AEMPS entre 2010 y 2016 para parches transdérmicos que incluían hombres

y mujeres, ya que de los 26 estudios que analizaron Chen et al. (2000), sólo encontraron diferencias estadísticamente significativas en un estudio realizado con al menos 12 sujetos por grupo de sexo que correspondía a un parche transdérmico de nitroglicerina. Esto podría sugerir que las diferencias que puedan existir en la piel de hombres y mujeres podrían causar la existencia de interacción sexo por formulación, al ser una de ellas más sensible para detectar diferencias entre las formulaciones. En el caso de la Unión Europea, los parches transdérmicos necesitan demostrar bioequivalencia en dosis única y en estado estacionario tras dosis múltiple. Por tanto, nos ofrece la posibilidad de confirmar si existe interacción sexo por formulación en ambos estudios o, si por el contrario, se trata de un artefacto estadístico.

OBJETIVOS

1. Investigar si se observa interacción sexo por formulación en todos los estudios de bioequivalencia realizados con comprimidos de efavirenz presentados a la AEMPS que incluyan hombres y mujeres, para descartar o confirmar la existencia de interacción sexo por formulación descrita por Ibarra et al. (2016).
2. Investigar la presencia de interacción sexo por formulación en todos los estudios de bioequivalencia realizados con hombres y mujeres con parches transdérmicos presentados a la AEMPS desde 2010 a 2016.
3. Investigar si se detecta interacción sexo por formulación en todos los estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa desde 2000 a 2016.
4. Comparar la frecuencia con que se detecta interacción sexo por formulación en estudios con menos de 12 sujetos por grupo de sexo y en estudios con más de 12 sujetos por grupo de sexo.
5. Describir como se distribuyen las diferencias entre los cocientes test/referencia de hombres y mujeres en todos los estudios de bioequivalencia que tienen un tamaño de muestra mayor de 12 sujetos por grupo de sexo.
6. Representar la distribución de las diferencias individuales entre test y referencia para analizar visualmente si la distribución de los hombres y las mujeres difiere en aquellos estudios en los que se detecta interacción sexo por formulación estadísticamente significativa o en los que las diferencias en los puntos medios del cociente test referencia entre hombres y mujeres es mayor del 20%.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Criterios de inclusión y exclusión de los estudios de bioequivalencia

Para investigar la interacción sexo por formulación en comprimidos de efavirenz (primer objetivo) se revisaron todos los estudios de bioequivalencia presentados a la AEMPS, pero solamente se identificaron dos estudios realizados en hombres y mujeres porque el resto de estudios se habían realizado solamente en hombres. Estos dos estudios se habían realizado en la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de la Princesa (Madrid). En ambos ensayos el producto test se comparó con el producto de referencia, Sustiva® (Bristol Myers Squibb Pharma).

El estudio piloto (número EUDRA-CT: 2012-004402-96) es un estudio de bioequivalencia aleatorizado, de dosis única, cruzado de 6 secuencias y 3 periodos, donde se comparan tres formulaciones de efavirenz 600 mg comprimidos recubiertos con película. Fueron incluidos 12 sujetos (6 hombres y 6 mujeres) y todos finalizaron el estudio, no hubo ninguna pérdida. Los sujetos fueron aleatorizados dentro de una de las seis secuencias de tratamiento: ABC, ACB, BAC, BCA, CAB O CBA, donde A y B eran dos formulaciones test y C era el producto de referencia (Sustiva®).

El estudio pivotal (número EUDRA-CT: 2013-004289-32) es un estudio aleatorizado, de dosis única, cruzado de 2 secuencias y 2 periodos, donde se comparan dos formulaciones de efavirenz 600 mg comprimidos recubiertos con película (la formulación A del estudio piloto y Sustiva® como formulación de referencia). Fueron reclutados 36 sujetos (17 hombres y 19 mujeres) y todos completaron el estudio. Este tamaño muestral fue seleccionado para tener al menos un 80% de poder para poder demostrar bioequivalencia en toda la población asumiendo diferencias de un 5% entre el producto test y la referencia y una variabilidad intrasujeto esperada del 25%. Por lo que 26 sujetos hubieran proporcionado un poder del 80% y los 36 sujetos seleccionados proporcionaron un 90% de poder.

En ambos estudios, los sujetos fueron ingresados desde 10 horas antes de la administración (para asegurar el ayuno) hasta 12 horas después para estandarizar las condiciones del ensayo. Entre los periodos existía un periodo de lavado de 21 días para el estudio piloto y de 28 días para el pivotal. Las extracciones de sangre para determinar las concentraciones plasmáticas fueron extraídas de forma basal y a las 0.5, 1.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.33, 2.67, 3.0, 3.33, 3.67, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0, 48.0, y 72.0 horas tras la administración de la dosis. Se utilizaron los mismos lotes

del producto test (lote SP089525) en el estudio piloto correspondiente al test A y en el estudio pivotal. Del mismo modo se utilizó el mismo producto de referencia (lote 2L69363).

Para investigar el segundo objetivo se revisaron todos los estudios de bioequivalencia realizados con parches transdérmicos presentados a la AEMPS, desde 2010 hasta 2016 y se seleccionaron aquellos en los que se incluyeron hombres y mujeres. Se excluyeron los estudios realizados para evaluar la tolerancia de la piel y las características de la adhesión. Con este criterio, un total de nueve estudios de bioequivalencia de cinco productos (Buprenorfina-1, Fentanilo-1, Fentanilo-2, Rivastigmina-1 y Rivastigmina-2) de tres principios activos diferentes estaban disponibles para su análisis. Seis estudios en dosis única y tres en dosis múltiple. Siete estudios siguen un diseño 2x2 y dos estudios (análisis 2 y 4) fueron con un diseño replicado 4x4. Los estudios “Fentanilo-1”, “Fentanilo-2” y “Rivastigmina-1” se realizaron en primer lugar con dosis única y una vez demostrada la bioequivalencia se realizó el estudio en dosis múltiple. En el caso de los estudios de “Buprenorfina-1” y “Rivastigmina-2” sólo se dispone del estudio en dosis única porque los estudios en dosis múltiple se realizaron sólo en hombres. Por tanto, se revisaron un total de 9 análisis de bioequivalencia que correspondían a 27 conjuntos de datos (9 C_{max} , 6 AUC_t , 6 AUC_{inf} , 3 AUC_{tau} y 3 $C_{through}/C_{min ss}$). Los estudios incluyeron voluntarios sanos, hombres y mujeres entre 18 y 50 años y el número de sujetos variaba de 20 a 51.

Para evaluar el tercer objetivo se analizaron todos los estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa desde 2000 a 2016 con la finalidad de explorar los siguientes objetivos concretos: en primer lugar, comparar la frecuencia con que se detecta interacción sexo por formulación en estudios con menos de 12 sujetos por grupo de sexo y en estudios con más de 12 sujetos por grupo de sexo; en segundo lugar, describir como se distribuyen las diferencias entre los cocientes test/referencia de hombres y mujeres en todos los estudios de bioequivalencia que tienen un tamaño de muestra mayor de 12 sujetos por grupo de sexo; y en tercer lugar, representar la distribución de las diferencias entre test y referencia individuales. Se excluyeron aquellos estudios cuyo objetivo no fue determinar biodisponibilidad comparada (3 ensayos) o aquellos en los que la administración fue intravenosa (2 ensayos) y aquellos realizados en un sólo sexo (6 ensayos en hombres y 3 en mujeres). Con este criterio, analizamos retrospectivamente un total de 120 estudios de bioequivalencia que incluían 69 principios activos diferentes. Se realizaron un total de 139 análisis de bioequivalencia, que corresponden a 278 conjuntos de datos (139 para AUC_t y 139 para C_{max}), porque en quince estudios se investigaba combinaciones a dosis fija de varios principios activos: amoxicilina / ácido clavulánico (3), candesartán / hidroclorotiazida, olmesartán / hidroclorotiazida (3), emtricitabina / tenofovir, amlodipino / atorvastatina, amlodipino / valsartán, ezetimiba /

simvastatina, valsartán / hidroclorotiazida, telmisartán / hidroclorotiazida, ibuprofeno / tramadol, ibuprofeno / paracetamol e ibuprofeno / fenilefrina / clorfenamina. Además, en un estudio se compararon dos formulaciones test diferentes de efavirenz, en otro estudio se compararon dos suspensiones con concentraciones diferentes de ibuprofeno que se han considerado como dos análisis independientes, y en otro estudio se evaluaron dos enantiómeros de lecanidipino.

Se recoge toda la información de los 139 análisis correspondientes a 120 estudios. Todos los estudios incluyeron voluntarios sanos hombres y mujeres entre 18 y 55 años. El número de sujetos incluidos variaba de 12 a 56. Todos los estudios fueron estudios en dosis única y la mayoría de ellos se diseñaron como diseños cruzados 2x2, sólo 12 estudios tuvieron un diseño replicado 4x4, y en 2 estudios se compararon tres productos (diseño 6x3).

Antes de llevar a cabo los ensayos, el protocolo y el consentimiento informado fueron revisados y aprobados por el CEIC del Hospital Universitario de La Princesa y por la AEMPS. Todos los documentos eran conforme a la legislación española (Real Decreto 561/1993, 223/2004, 1090/2015, según el momento de realización), y de acuerdo a las pautas de ICH para Buenas Prácticas Clínicas (EMA, 2016), así como con la Declaración de Helsinki Revisada (Declaración de Helsinki, 1996, 2000, 2008, 2013).

Los sujetos fueron ingresados 10 horas antes de la administración, recibiendo la formulación test o referencia por vía oral con 240 ml de agua y respetándose un período de lavado adecuado entre ambos periodos. Se tomaron muestras de sangre y se analizaron las concentraciones plasmáticas o séricas. Los datos farmacocinéticos utilizados para la bioequivalencia fueron C_{max} y AUC_t , porque todos fueron estudios en dosis única y ningún producto era de liberación prolongada.

2. Métodos estadísticos

Se seleccionaron los parámetros farmacocinéticos primarios, la concentración máxima (C_{max}) y el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas versus el tiempo desde el tiempo cero hasta el momento de la última concentración medible (AUC_{0-t}), que se habían estimado previamente en la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de la Princesa mediante un análisis no compartimental utilizando WinNonlin Professional Edition, versiones 2.0, 5.0 y 6.0 (Scientific Consulting, Inc., Cary, NC, EE. UU.). AUC se calculó con la regla trapezoidal lineal.

Se calcularon los intervalos de confianza del 90% del cociente test/referencia para C_{\max} y AUC con SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, EE.UU.), utilizando el análisis de varianza (ANOVA) con varios modelos como describen Chen et al. (2000) utilizando el modelo general lineal (proxGLM).

El modelo del ANOVA clásico es el recomendado por la EMA para el análisis global del estudio de bioequivalencia, tiene en cuenta 4 factores: secuencia, sujeto (secuencia), período y formulación, y corresponde al “Modelo 3” descrito por Chen et al. (2000). Este análisis se aplicó a todos los sujetos combinados y de forma estratificada a hombres y mujeres por separado. Para investigar la interacción sexo por formulación, se aplicó el “Modelo 2” de ANOVA descrito por Chen et al. (2000) que incluye: secuencia, sexo, secuencia * sexo, sujeto (secuencia * sexo), período, formulación, sexo * formulación. Se consideró que existía interacción sexo por formulación estadísticamente significativa cuando el valor p de la interacción era inferior o igual a 0,05.

Se consideró que los datos sugerían la existencia de una interacción sexo por formulación cuando las diferencias entre los cocientes test referencia de hombres y mujeres eran mayores del 20% de acuerdo con el criterio empleado por Chen et al. (2000).

La diferencia entre el cociente test/referencia de C_{\max} y AUC entre hombres y mujeres no se calculó del mismo modo que Chen et al. (2000) con las estimaciones puntuales observadas, porque la diferencia entre el test /referencia de hombres y mujeres debe corregirse cuando los valores están por encima del 100% ya que están calculados a partir de los datos transformados logarítmicamente. Por ejemplo, si el cociente test/referencia en los hombres es del 125% y del 100% en las mujeres, la diferencia no es del 25%, sino sólo del 20%. Esta corrección se ha calculado utilizando el inverso de aquellos valores por encima de 100%, por ejemplo el inverso de 1.25 es 0.8, es decir, 80%. Por lo tanto, la diferencia entre 80% y 100% es 20%.

Hemos utilizado este método porque es fácil de entender y fue el método utilizado por Chen et al. (2000), aunque no concuerda con el cálculo de la magnitud de la interacción sexo por formulación que se obtiene del ANOVA, porque la diferencia entre las estimaciones puntuales se calcula en la escala original, mientras que la interacción se calcula en la escala logarítmica y su estimación puntual se transforma de nuevo a la escala original y se expresa como diferencia porcentual con respecto a 1.

El coeficiente de variación se estimó utilizando la fórmula descrita en la Guía sobre la investigación de bioequivalencia de la EMA (2010).

$$CV(\%) = 100\sqrt{e^{S_{WR}^2} - 1}$$

Para comprobar que los datos no se desvían de una distribución normal de forma significativa se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov en SPSS 15.0.1 para Windows. El cálculo del intervalo de confianza al 90% de la interacción sexo por formulación se ha calculado con SPSS v.20.0.0.

3. Análisis gráfico de los datos

Con el fin de identificar la causa de la interacción sexo por formulación, las diferencias individuales test-referencia de los datos transformados logarítmicamente, es decir, el log test - log referencia de todos los individuos, se han representado gráficamente con Microsoft Excel v. 15.37. Las diferencias se han representado en escala logarítmica porque describen de forma simétrica la distribución de los datos alrededor de cero, mientras que los cocientes test/referencia, no son simétricos alrededor de uno. En el caso de diseños replicados, se ha calculado la media de los valores transformados logarítmicamente de test y referencia para representar un único punto por formulación y sujeto. La nube de puntos obtenida permite evaluar si existen dos nubes separadas para hombres o mujeres lo que confirmaría la existencia de una interacción sexo por formulación o si las nubes de hombres y mujeres se solapan y las diferencias se deben a valores extremos o a una distribución desigual dentro de una misma nube.

Los histogramas se han representado utilizando SPSS 15.0.1 para Windows.

La valores extremos se han identificado mediante diagramas de cajas utilizando SPSS v.20.0.0. Se han representado un total de tres cajas por estudio: una caja con los valores de los sujetos masculinos (M), otra caja para valores femeninos (F) y otra de todos los sujetos en total (T).

RESULTADOS

1. Interacción sexo por formulación en efavirenz

La tabla 1 muestra los resultados de bioequivalencia del estudio piloto, empleando el ANOVA convencional para todos los sujetos, hombres y mujeres por separado, así como el ANOVA que incluye el efecto del sexo y la interacción sexo por formulación. También muestra la diferencia entre hombres y mujeres en las estimaciones puntuales del cociente Test/Referencia para C_{max} y AUC y la estimación puntual con su intervalo de confianza del 90% de la interacción sexo por formulación.

Tabla 1. Resultados de bioequivalencia obtenidos para el estudio piloto de efavirenz.

Comparaciones		C_{max}	AUC
		Punto medio (%) (IC al 90%)	Punto medio (%) (IC al 90%)
TEST A vs. SUSTIVA (C)	Análisis combinado (n=12)	85,77 (76,85 – 95,72)	97,10 (91,78 – 102,73)
	Hombres (n=6)	79,38 (65,53 – 96,15)	96,99 (86,64 – 108,57)
	Mujeres (n=6)	95,42 (82,34 – 110,58)	98,60 (91,33 – 106,44)
	Análisis combinado ANOVA incluyendo el sexo	85,77 (77,28 – 95,19)	97,10 (91,61 – 102,93)
TEST B vs. SUSTIVA (C)	Análisis combinado (n=12)	77,33 (69,29 – 86,30)	91,86 (86,83 – 97,19)
	Hombres (n=6)	80,22 (66,22 – 97,17)	94,64 (84,54 – 105,95)
	Mujeres (n=6)	74,65 (64,41 – 86,50)	90,19 (83,55 – 97,37)
	Análisis combinado ANOVA incluyendo el sexo	77,33 (69,68 – 85,82)	91,86 (86,66 – 97,38)
Interacción sexo*formulación (valor de la p)			
Todos los datos		0,14	0,64
Sólo Test A y Referencia C		0,34	0,80
Sólo Test B y Referencia C		0,70	0,57
Diferencias en los puntos medios entre mujeres y hombres			
TEST A vs. SUSTIVA (C)		16,04%	1,61%
TEST B vs. SUSTIVA (C)		-5,57%	-4,45%
Punto medio de la estimación para la interacción sexo*formulación de todos los datos y su IC al 90%			
TEST A vs. SUSTIVA (C)		16,81% (-3,31% – 33,09%)	1,63% (-9,99% – 12,91%)
TEST B vs. SUSTIVA (C)		-6,95% (-25,15% – 13,56%)	-4,70% (-15,62 – 7,09%)

En el estudio piloto, la formulación B presentó una C_{\max} menor que la formulación A y la formulación de referencia. Por tanto, la formulación A fue seleccionada para llevar a cabo el estudio pivotal de bioequivalencia. Es importante destacar que el análisis combinado para la comparación A vs. C mostró una estimación puntual de 85.77% para C_{\max} , mientras que el análisis estratificado de hombres y mujeres mostró estimaciones puntuales para C_{\max} de 79.38% y 95.42%, respectivamente. Esta diferencia es mayor al 15% y, por lo tanto sugiere, aunque no llegue al 20%, que puede existir una interacción sexo por formulación, aunque la interacción no alcance significación estadística, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra. En consecuencia, podría sospecharse que los resultados obtenidos en hombres no son representativos de los resultados obtenidos en mujeres y el análisis combinado no es representativo de ningún grupo de sexo. Por el contrario, las estimaciones puntuales para la comparación B vs. C son similares en hombres y mujeres y el análisis combinado es representativo de ambos grupos de sexo. Nótese que si hay interacción sexo por formulación en una formulación, debería haberla habido en la otra porque ambas son muy semejantes.

Los resultados del estudio pivotal se muestran en la tabla 2, donde las estimaciones puntuales para el cociente test/referencia de las medias geométricas de C_{\max} son similares entre hombres y mujeres y no hay señal que sugiera la existencia de interacción sexo por formulación. Además, es importante aclarar que las estimaciones puntuales cambian ligeramente cuando se analizan con el ANOVA clásico y el ANOVA que contiene el efecto del sexo y de la interacción de sexo por formulación porque el modelo con el término de la interacción da el mismo peso a ambos grupos de sexo, aunque el número de hombres y mujeres sea diferente como ocurre en este estudio (EMA, 2015a).

Tabla 2. Resultados de bioequivalencia obtenidos en el estudio pivotal de efavirenz.

	C_{max} Punto medio (%) (IC al 90%)	AUC Punto medio (%) (IC al 90%)
Análisis combinado (n=36)	111,84 (100,97 – 123,89)	105,17 (98,89 – 111,85)
Hombres (n=17)	109,98 (96,51 – 125,34)	102,09 (95,51 – 109,12)
Mujeres (n=19)	111,14 (93,92 – 131,50)	106,94 (95,99 – 119,15)
Análisis combinado con ANOVA incluyendo el sexo	111,82 (100,76 – 124,08)	105,04 (98,69 – 111,79)
Sexo*formulación (valor de la p)	0,95	0,55
Diferencias entre los puntos medios estimados entre mujeres y hombres	0,95%	4,44%
Punto medio de la interacción sexo*formulación y su IC al 90%	0,78% (-18,39% – 19,66%)	4,43% (-7,80% – 15,78%)

Las figuras 5, 7 y 8 muestran la distribución gráfica individual de las diferencias para C_{max} en escala logarítmica de todos los sujetos de nuestro estudio piloto, del pivotal y del estudio publicado por Ibarra et al. (Ibarra et al., 2016; Vázquez et al., 2015), respectivamente, para investigar la posible existencia de valores extremos y su impacto en las estimaciones medias de estos estudios. La figura 6 muestra la distribución para AUC del estudio piloto.

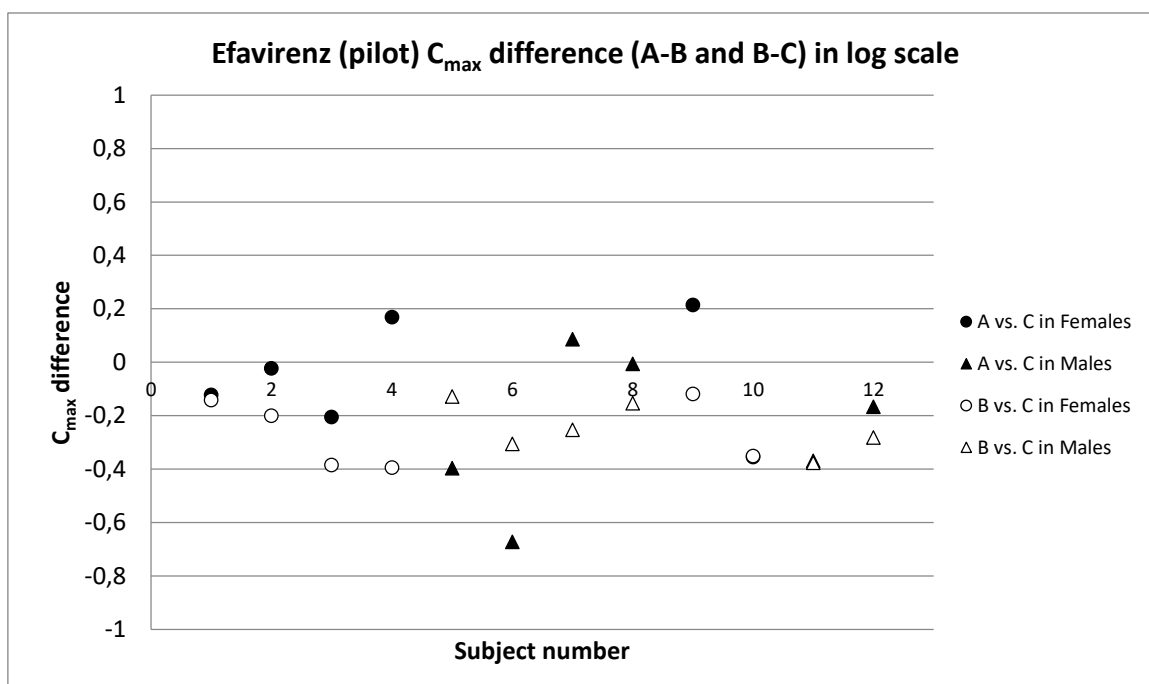


Figura 5. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre los productos test y referencia en el estudio piloto de efavirenz.

La comparación entre el test A y la referencia C se representa con símbolos cerrados y la comparación entre el test B y la referencia C se representa con símbolos abiertos. Las mujeres se representan como círculos y los hombres como triángulos.

La figura 5 muestra que el sujeto #6 (hombre) en el estudio piloto se comporta como un valor extremo para la formulación test A, con una diferencia T-R muy negativa para C_{max} en la escala logarítmica, pero no ocurre lo mismo con la formulación test B. Por el contrario, las diferencias positivas más acusadas para T-R se observan para los sujetos #4 y #9, que son mujeres. Las otras nueve diferencias test A-referencia C se encuentran dentro de una misma nube de puntos. Por lo tanto, la media de los valores de los cocientes para C_{max} de hombres y mujeres está influenciada por la presencia de estos valores extremos. Al comparar el test B con la referencia C, la distribución de las diferencias T-R se superpone sin valores extremos y la media de los cocientes para C_{max} son similares en ambos sexos.

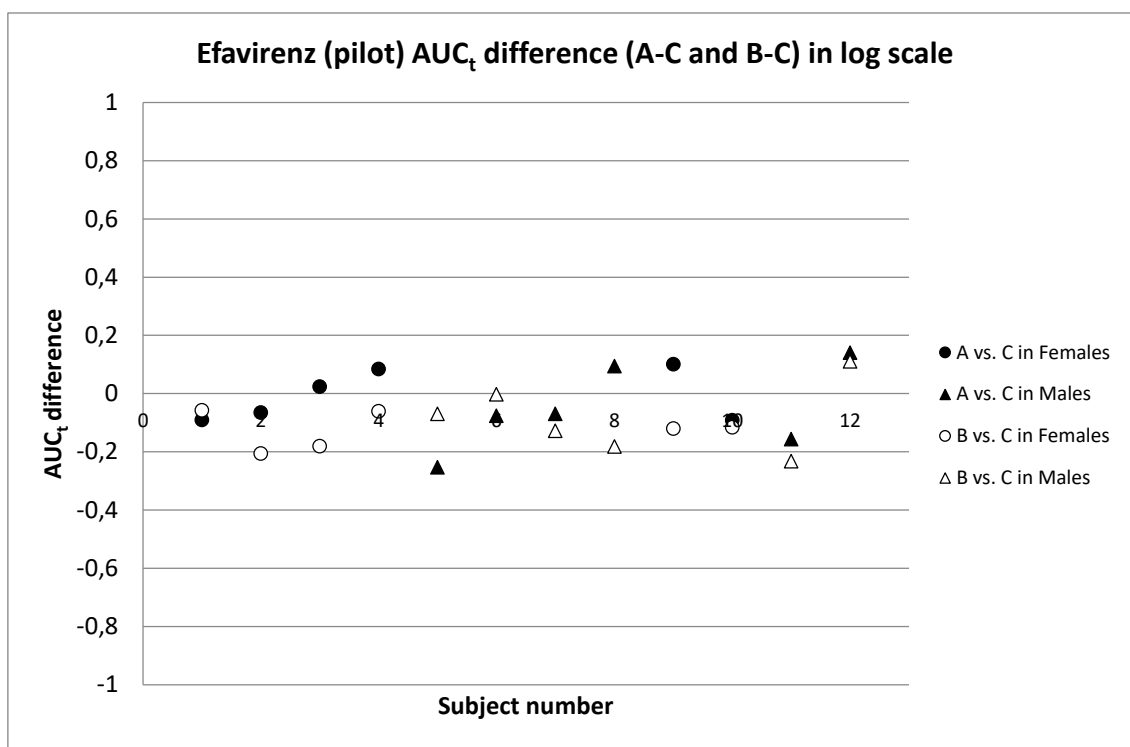


Figura 6. Distribución de las diferencias individuales para AUC_t en escala logarítmica entre los productos test y referencia en el estudio piloto de efavirenz.

La comparación entre el test A y la referencia C se representa con símbolos cerrados y la comparación entre el test B y la referencia C se representa con símbolos abiertos. Las mujeres se representan como círculos y los hombres como triángulos.

La figura 6 muestra que las nubes de puntos de hombres y mujeres están solapadas tanto para la formulación A como para la B. Se puede observar que el sujeto #6 (hombre), que se comportaba como un valor extremo para C_{max} cuando se le administró la formulación test A, no se comporta como valor extremo para AUC_t . De forma que el sujeto #6 se encuentra incluido dentro de la nube de puntos descrita por el resto de sujetos

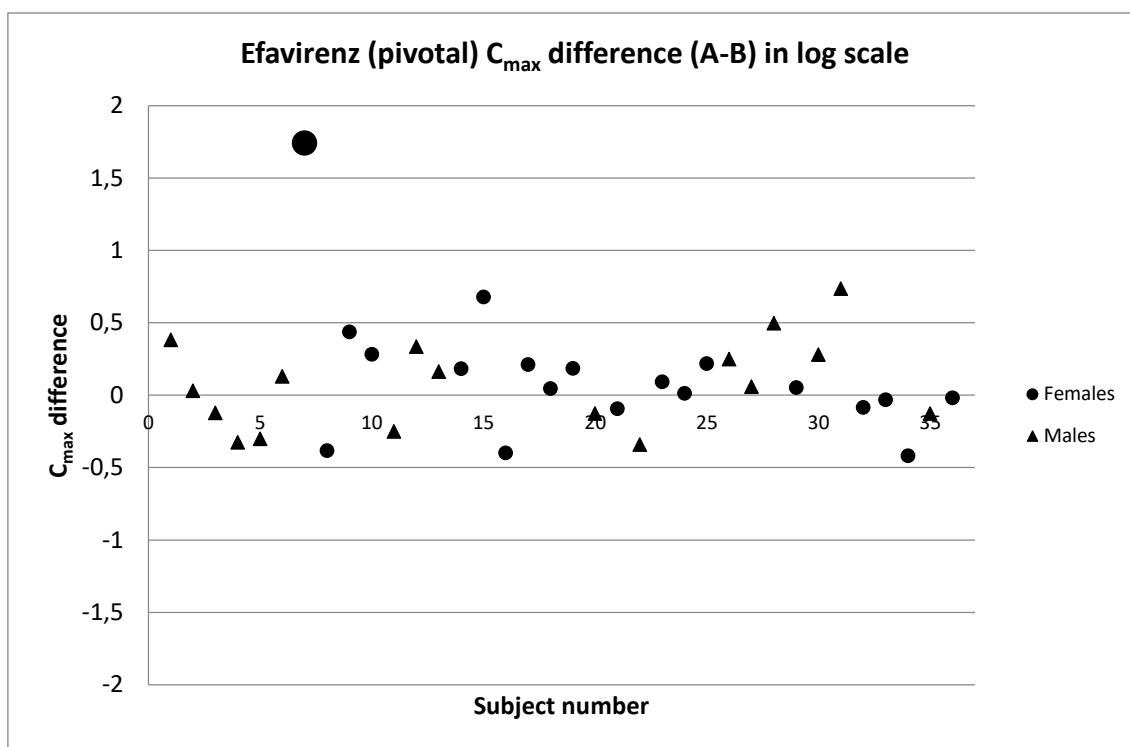


Figura 7. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre los productos test (A) y referencia (C) en el estudio pivotal de efavirenz.

En la figura 7, la representación gráfica para nuestro estudio pivotal, muestra que la distribución del test (A) y las diferencias respecto a la referencia se superponen. Aunque la mujer número #7 sería un valor extremo (1.74 para la diferencia T-R en la escala logarítmica), tiene poco impacto porque es compensada por todos los demás sujetos debido al mayor tamaño muestral del estudio. Excluyendo a la mujer #7, el hombre #31 representa la diferencia T-R más alta (0.74), y es similar a la mujer #15 (0.68). Por otro lado, las diferencias menores T-R se observan en las mujeres #8, #16 y #34 (-0.38, -0.40 y -0.42, respectivamente), pero diferencias similares T-R se observan para los hombres #4, #5, y #22 (-0.32, -0.30 y -0.34, respectivamente).

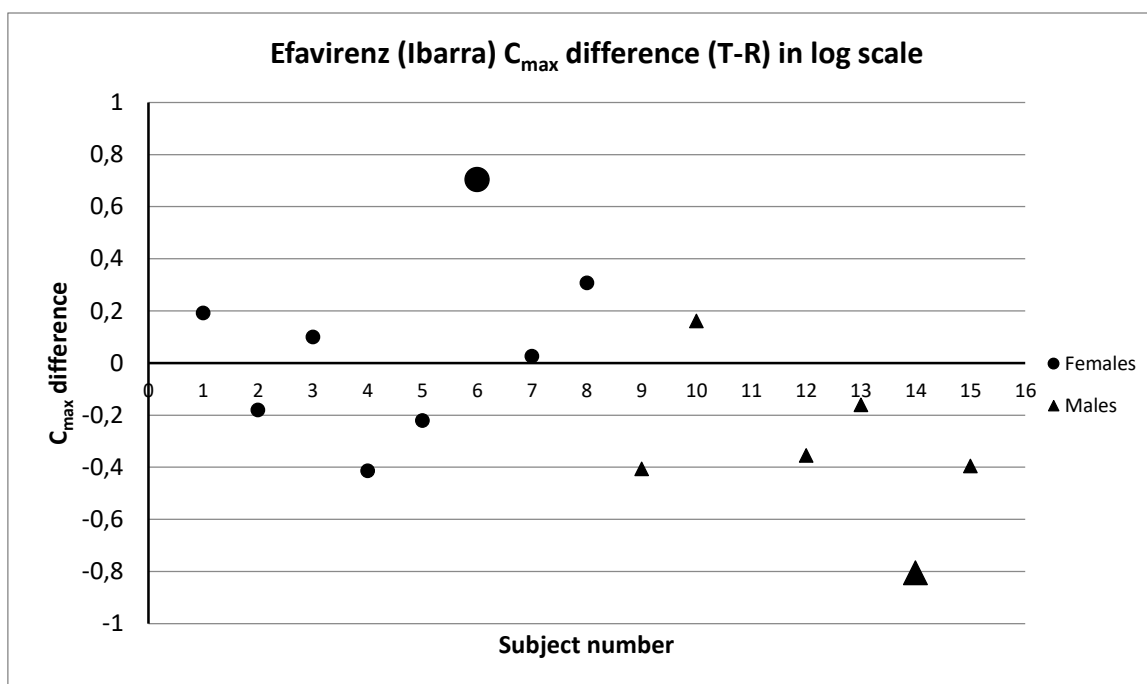


Figura 8. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre los productos test y referencia en el estudio publicado por Ibarra et al. (2016).

La figura 8 muestra la distribución del estudio de efavirenz realizado por Ibarra et al. (Ibarra et al., 2016, Vázquez et al., 2015). Se puede observar que las diferencias T-R están superpuestas, a excepción de dos valores extremos (sujetos #6 y #14). Estos dos valores están en direcciones diferentes y pertenecen a sujetos con diferente sexo. En consecuencia, la media de los grupos de sexo se desplaza en diferentes direcciones, debido a su pequeño tamaño muestral. Estas diferencias sugieren la existencia de interacción sexo por formulación pero están causadas por las diferencias en estos valores extremos que probablemente por casualidad pertenecen a sujetos de diferente sexo.

2. Interacción sexo por formulación en estudios realizados con parches transdérmicos

La tabla 3 muestra los resultados de los 9 estudios de bioequivalencia correspondientes a 5 parches transdérmicos presentados a la AEMPS. Los resultados de estos estudios se analizaron con el ANOVA convencional a todos los sujetos y estratificados por sexo y el ANOVA que incluye el factor sexo y la interacción sexo por formulación. Los estudios enumerados como 5, 6 y 9 incluyen al menos 12 hombres y 12 mujeres por grupo de sexo y los restantes estudios incluyen menos de 12 sujetos en algún grupo de sexo.

Sólo en un análisis se encontró una diferencia mayor del 20% entre el cociente test/referencia de hombres y mujeres. Este valor corresponde al C_{min} en estado estacionario del estudio en dosis múltiple “Fentanilo-2”, estudio en el cual participaron 14 mujeres y 14 hombres. Desde el punto de vista estadístico, se detectó una interacción significativa en dos análisis, la C_{max} ($p = 0.014$) y el AUC_{tau} ($p = 0.005$) del estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”, que se llevó a cabo en 8 mujeres y 32 hombres.

En uno de 27 análisis (3.7%) se detectó una diferencia que sugiere la existencia de interacción sexo por formulación y en dos análisis de 27 (7.4%) se detectó una interacción sexo por formulación estadísticamente significativa.

En total, 3 análisis de 27 (11.1%) detectan o sugieren la existencia interacción sexo por formulación, lo que representa el 22.2% del total de los estudios (2 de 9 estudios).

Las figuras 9-14 muestran, respectivamente, la distribución individual de las diferencias test-referencia en escala logarítmica y los diagramas de cajas del único caso con diferencias mayores del 20% entre hombres y mujeres (C_{min} del estudio “Fentanilo-2” en dosis múltiple (21,08%)) y los dos casos de interacción sexo por formulación estadísticamente significativa (C_{max} del estudio “Rivastigmina-1” en dosis múltiple (Diferencia = -17.13%; $p = 0.014$) y AUC_{tau} (Diferencia = -15.73; $p = 0.005$)) para investigar las razones de dichas diferencias entre ambos grupos de sexo.

RESULTADOS

Tabla 3. Resultados de los 9 estudios de bioequivalencia que incluyeron hombres y mujeres de 5 parches transdérmicos presentados a la AEMPS de 2010 a 2016.

				ANOVA convencional										ANOVA con interacción sexo por formulación			
				Combinado			Mujeres (F)			Hombres (M)			F-M	Combinado			
Estudio	Fármaco	N (F/M)	Parámetro	Cociente	90 % CI		Cociente	IC al 90%		Cociente	IC al 90%		% Dif	Cociente	IC al 90%		S*F (valor p)
1	Buprenorfina-1 (dosis única)	(20/11)	Cmax	100,43	94,67	106,53	100,22	91,62	109,63	102,20	96,02	108,78	-1,93	100,60	94,46	107,14	0,881
			AUCt	96,12	91,16	101,35	97,83	90,65	105,59	93,23	86,22	100,80	4,60	95,42	90,21	100,92	0,465
			AUCinf	96,30	91,28	101,59	98,18	90,91	106,03	93,17	86,12	100,80	5,01	95,53	90,28	101,09	0,430
2	Fentanilo-1 (dosis única)	(9/16)	Cmax	91,20	86,76	95,87	87,96	78,88	98,09	93,43	88,68	98,43	-5,46	90,34	85,77	95,16	0,285
			AUCt	95.88	92.47	99.42	96.64	89.72	104.09	95.67	91.81	99.70	0.96	95.96	92.38	99.68	0.896
			AUCinf	93.77	90.54	97.11	90.80	84.95	97.05	95.67	91.81	99.70	-4.87	93.00	89.68	96.43	0.182
3	Fentanilo-1 (dosis múltiple)	(7/35)	Cmax	97.63	92.25	103.33	107.19	96.28	119.33	95.93	89.85	102.42	10.78	101.10	93.71	109.07	0.253
			AUCtau	97.34	93.56	101.28	105.52	98.63	112.90	95.85	91.59	100.32	9.38	100.39	95.26	105.80	0.146
			Cthrough	99.07	95.79	102.48	102.88	95.43	110.90	98.48	94.79	102.31	4.32	100.21	95.74	104.90	0.532
4	Fentanilo-2 (dosis única)	(10/10)	Cmax	134.42	121.05	149.26	125.24	114.69	136.76	141.68	117.55	170.77	-9.27	123.99	110.27	139.41	0.824
			AUCt	169.03	116.65	244.94	163.05	76.79	346.21	164.76	134.06	202.48	0.64	133.61	123.39	144.67	0.721
			AUCinf	153.84	107.04	221.12	151.89	71.36	323.28	147.71	129.48	168.51	1.86	130.59	121.98	139.81	0.962
5	Fentanilo-2 (dosis única)	(15/15)	Cmax	89,22	82,83	96,10	85,60	75,68	96,82	91,89	84,86	99,51	-6,29	89,22	82,78	96,16	0,428
			AUCt	98,48	92,83	104,48	94,27	85,14	104,38	102,38	95,71	109,52	-8,05	98,48	92,87	104,44	0,243
			AUCinf	102,52	96,71	108,69	104,20	93,90	115,62	100,78	93,86	108,21	3,26	102,58	96,66	108,86	0,657
6	Fentanilo-2 (dosis múltiple)	(14/14)	Cmax	96,91	84,26	111,46	89,05	81,18	97,70	105,46	80,08	138,89	-16,13	96,91	84,26	111,46	0,312
			AUCtau	100,56	92,65	109,13	97,18	90,16	104,76	104,04	89,15	121,43	-6,70	100,56	92,57	109,23	0,488
			Cmin ss	106,66	95,27	119,42	95,22	82,04	110,52	119,48	100,81	141,61	-21,08	106,66	95,66	118,93	0,087
7	Rivastigmina-1 (dosis única)	(11/40)	Cmax	100,63	94,81	106,81	110,28	99,26	122,54	99,76	93,30	106,66	9,56	102,13	94,91	109,90	0,558
			AUCt	101,56	96,85	106,49	109,49	99,61	120,35	100,73	95,56	106,18	7,94	102,92	97,09	109,09	0,507
			AUCinf	101,54	96,86	106,45	109,44	99,55	120,32	100,71	95,57	106,12	7,92	102,90	97,10	109,04	0,505
8	Rivastigmina-1 (dosis múltiple)	(8/32)	Cmax	91,74	86,44	97,37	78,75	64,20	96,60	95,88	90,63	101,43	-17,13	86,02	80,24	92,22	0,014
			AUCtau	90,39	85,74	95,29	78,79	65,16	95,28	94,52	90,56	98,64	-15,73	84,78	79,82	90,05	0,005
			Cmin ss	93,85	88,92	99,05	88,68	70,55	111,45	95,41	90,61	100,45	-6,73	91,62	85,63	98,03	0,327
9	Rivastigmina-2 (dosis única)	(15/32)	Cmax	104,53	98,88	110,51	106,77	98,30	115,96	103,63	96,25	111,57	2,84	104,60	98,48	111,11	0,960
			AUCt	104,70	99,70	109,96	104,92	97,16	113,31	104,66	98,16	111,58	0,24	104,53	99,13	110,23	0,888
			AUCinf	104,65	99,67	109,87	104,34	97,14	112,08	105,05	98,39	112,15	-0,65	104,49	99,12	110,16	0,896

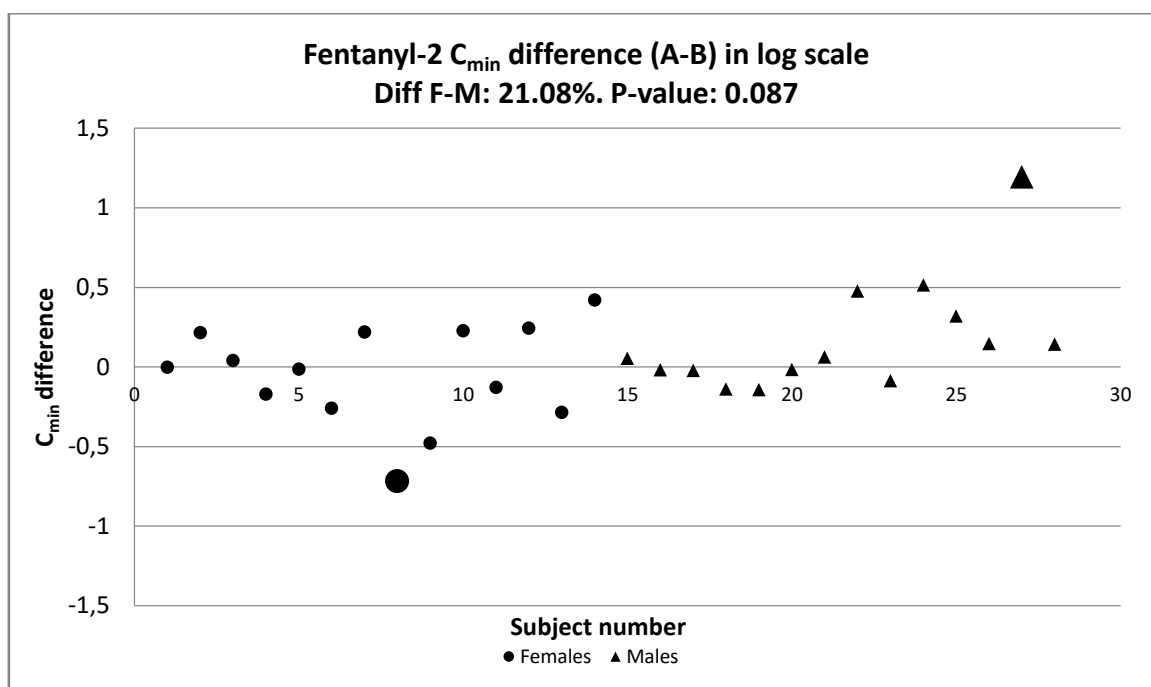


Figura 9. Distribución de las diferencias individuales de C_{min} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Fentanilo-2”.

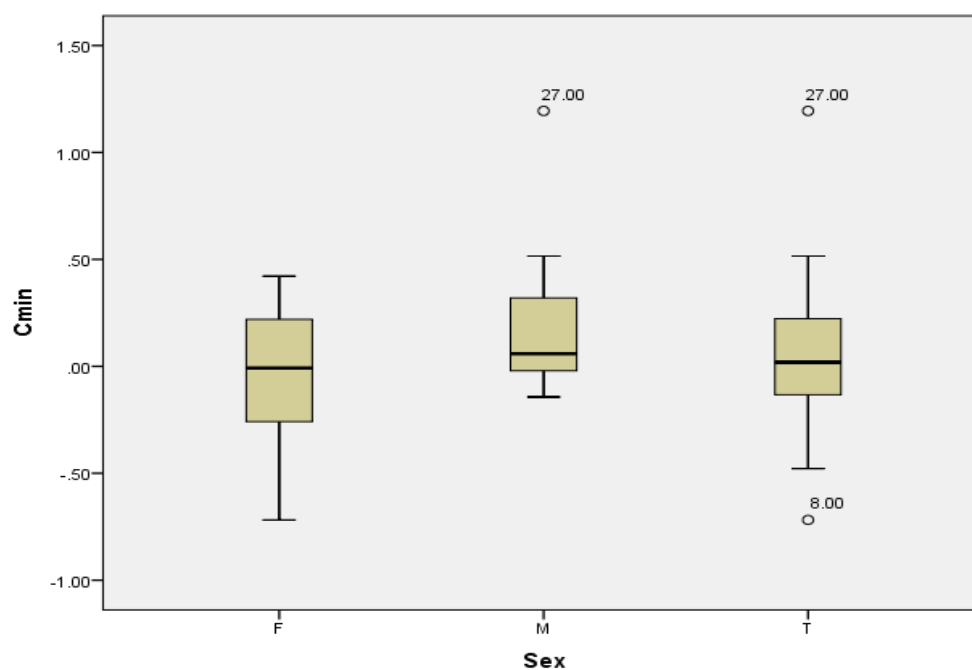


Figura 10. Diagrama de cajas de los hombres (M), mujeres (F) y toda la población (T) para C_{min} en el estudio “Fentanilo-2”.

Las figuras 9 y 10 muestran que la distribución de los valores de C_{\min} de hombres y mujeres se superpone excepto el sujeto #8 (mujer) que se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R negativa (-0.72 por la diferencia para T-R en escala logarítmica) y el sujeto #27 hombre, que se comporta como un valor extremadamente positivo (1.19 para la diferencia para T-R en escala logarítmica). En consecuencia, las medias de los dos grupos de sexo se desplazan en direcciones diferentes sugiriendo la existencia de la interacción sexo por formulación (dif F-M: -21.08), aunque no alcanza significación estadística debido a la variabilidad en el conjunto de datos (CV: 28.92%) y el limitado tamaño muestral.

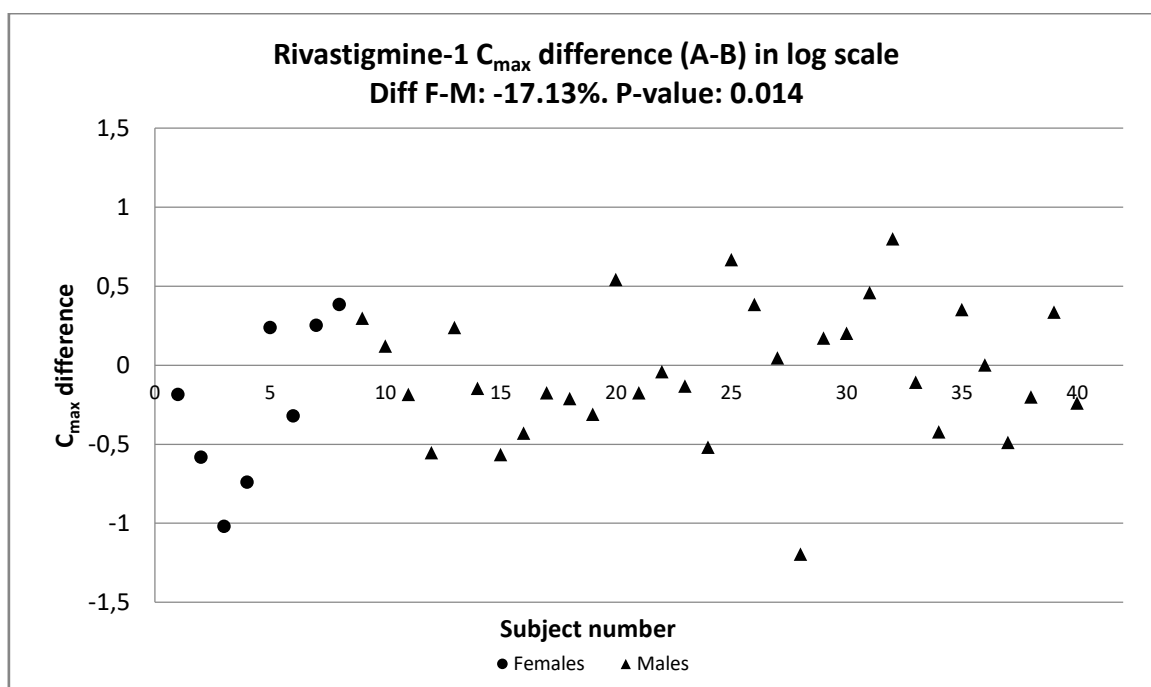


Figura 11. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.

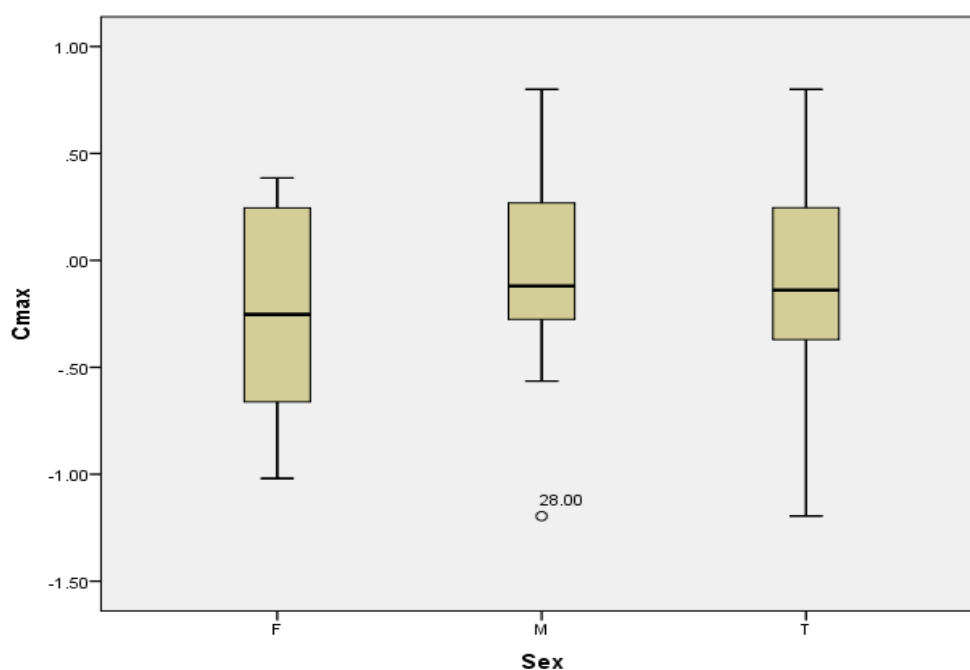


Figura 12. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y toda la población (T) para C_{\max} en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.

Sin embargo, la figura 11 muestra que la distribución de las diferencias individuales T-R en la escala logarítmica de los valores de C_{\max} de hombres y mujeres se encuentra superpuesta sin ningún valor extremo. Esto se confirma con el diagrama de cajas de la figura 12. Visualmente se observa que las mujeres predominan en la parte baja de la nube, sin embargo, sólo hay 8 observaciones femeninas en comparación con las 32 observaciones masculinas y, por lo tanto, la media de las mujeres no es muy fiable debido al pequeño tamaño muestral. Además, los datos presentan baja variabilidad (C_{\max} : 11,77%), lo que podría ser la causa de que la interacción sexo por formulación sea estadísticamente significativa.

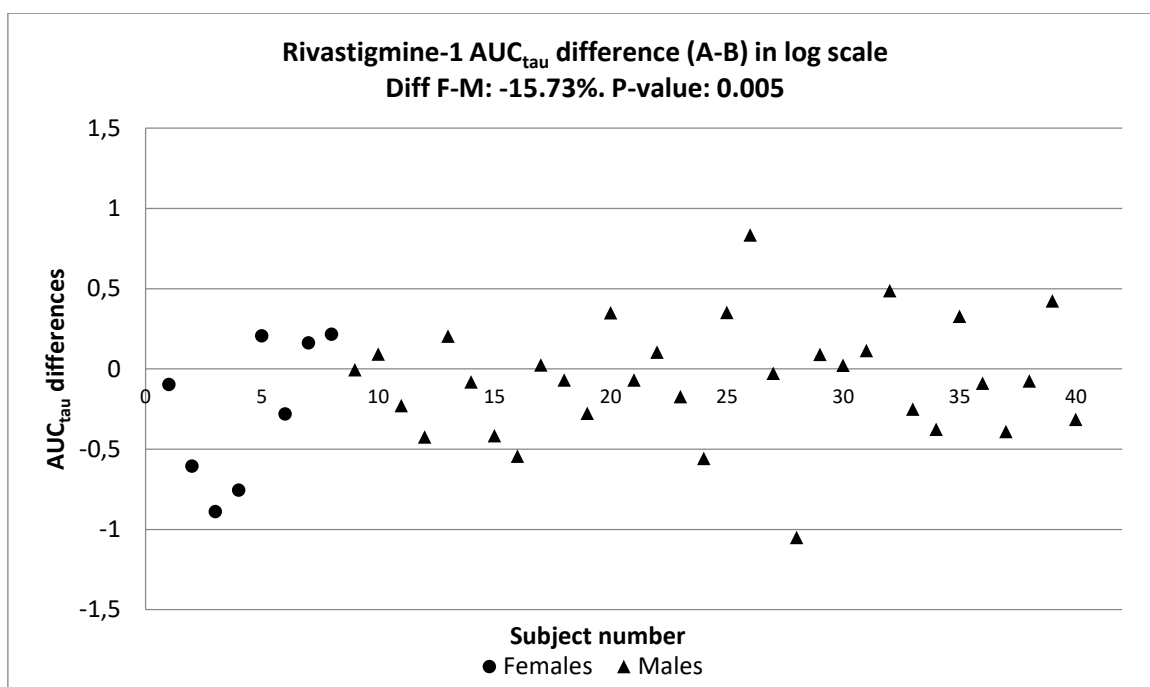


Figura 13. Distribución de las diferencias individuales de AUC_{tau} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”

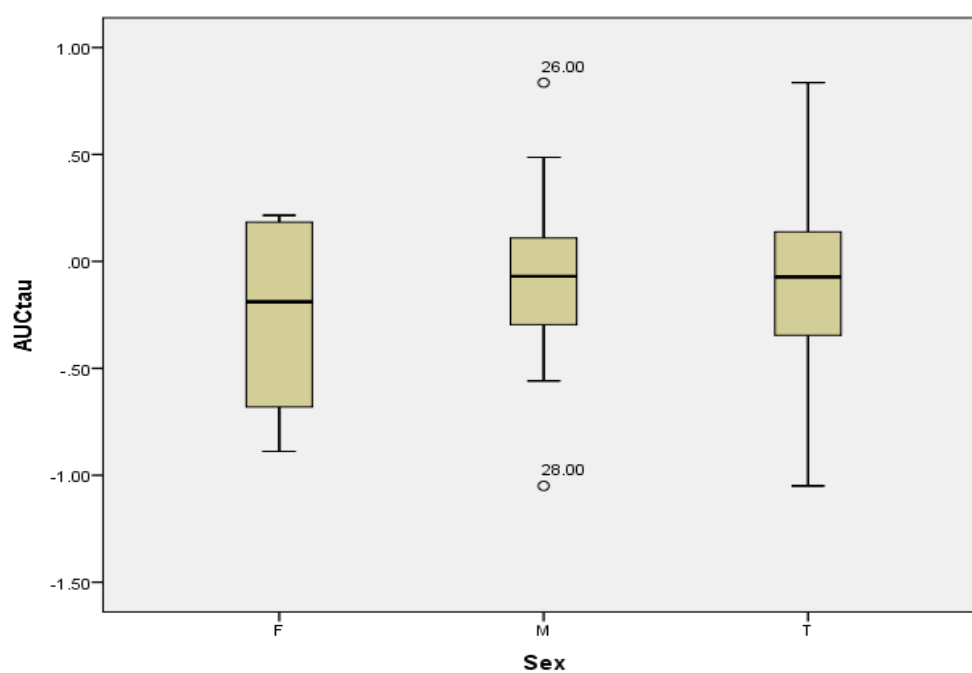


Figura 14. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y toda la población (T) para AUC_{tau} en el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1”.

Al igual que en el caso anterior para C_{\max} , la figura 13 muestra que la distribución de las diferencias individuales T-R en la escala logarítmica de los valores de AUC_{tau} de hombres y mujeres se encuentran superpuestas sin ningún valor extremo que sea confirmado con el diagrama de cajas de la figura 14. De nuevo se observa que los hombres predominan en la parte alta de la nube y que las 8 mujeres están comprendidas dentro del rango definido por las diferencias máximas y mínimas que corresponden a hombres. Como en el caso anterior, la media de las mujeres no es muy fiable debido al pequeño tamaño muestral. La baja variabilidad (CV de AUC_{tau} : 10.43%) parece ser la causa de que la interacción sexo por formulación sea estadísticamente significativa.

3. Interacción sexo por formulación en los estudios realizados en el Hospital Universitario de la Princesa

La tabla 4 muestra los resultados de los 139 análisis que corresponden a 120 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa en hombres y mujeres, empleando el ANOVA convencional para todos los sujetos y para ambos grupos de sexo por separado, así como con el ANOVA que incluye el factor sexo y la interacción sexo por formulación. Los análisis numerados del 1 al 110 se refieren a 95 estudios con al menos 12 sujetos por grupo de sexo y los análisis del 111 al 139 se refieren a 25 estudios con menos de 12 mujeres u hombres. Los valores en negrita muestran diferencias en el cociente test/referencia entre hombres y mujeres mayores del 20% o interacción sexo por formulación estadísticamente significativa.

En estudios con al menos 12 hombres y 12 mujeres, un total de 8 estudios de 95 (8,4%) mostraron diferencias mayores del 20% para los cocientes entre hombres y mujeres (los 8 para C_{max} y 1 para AUC). Para C_{max} , los 8 estudios de bioequivalencia (8,4%) fueron “Agomelatina”, “Atorvastatina-5”, “Barnidipino-1”, “Dexketoprofeno-1”, “Ezetimiba-1”, “Omeprazol-2”, “Fenilefrina” y “Telmisartán-2”. Para AUC, el único estudio (1,1%) fue Barnidipino-1. Contando el número total de datos (220 para C_{max} y AUC_t), hay señal de interacción sexo por formulación en 9 de ellos (4.1%).

Con el modelo ANOVA que incluye sexo y la interacción sexo por formulación, “Modelo 2” según Chen et al. (2000), se observó un valor de p estadísticamente significativo ($p < 0.05$) para la interacción sexo por formulación en 9 estudios (9,5%) y en 9 datos (4,1%): 6 estudios/datos para C_{max} (6,3% / 2,7%) y 3 estudios/datos para AUC (3,2% / 1,4%). Para C_{max} los estudios fueron “Aripiprazol-1”, “Atorvastatina-5”, “Dexketoprofeno-1”, “Ezetimiba-1”, “Omeprazol-2” y “Telmisartán-2”. Para AUC los estudios fueron “Aripiprazol-2”, “Mirtazapina” y “Rasagilina-1”. En total 12 estudios (12.6%) y 13 datos (5.9%) mostraron interacción estadísticamente significativa o diferencias clínicamente relevantes entre hombres y mujeres.

RESULTADOS

Tabla 4. Resultados de los 139 análisis de los 120 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa en sujetos de sexo masculino y femenino entre 2000 y 2016.

				ANOVA Clásico										ANOVA con la interacción sexo*formulación			
				Combinado			Mujeres (F)			Hombres (M)			F-M	Combinado			
Análisis	Fármaco	N (F/M)	Parámetro	Cociente	IC al 90 %		Cociente	IC al 90 %		Cociente	IC al 90 %		% Dif	Cociente	IC al 90 %		S*F (valor p)
1	Agomelatina	(16/19)	Cmax	160,76	131,06	197,19	193,19	138,40	269,67	136,31	105,37	176,34	21,60	162,74	132,72	199,54	0,174
			AUC	141,72	121,76	164,96	162,02	125,80	208,67	125,53	105,21	149,78	17,94	142,98	122,86	166,40	0,185
2	Alopurinol-1	(12/12)	Cmax	81,02	67,81	96,80	82,30	61,48	110,19	79,51	60,54	104,43	2,79	81,02	67,51	97,23	0,874
			AUC	90,85	83,50	98,85	89,86	76,73	105,25	91,25	82,32	101,16	-1,39	90,85	83,33	99,06	0,882
3	Alopurinol-2	(12/12)	Cmax	102,58	98,78	106,51	105,18	99,69	110,98	100,16	94,12	106,60	4,77	102,58	98,80	106,50	0,282
			AUC	102,19	98,98	105,50	102,15	96,42	108,22	102,08	97,85	106,49	0,07	102,19	98,90	105,59	0,986
4	Ambroxol	(12/12)	Cmax	98,84	93,96	103,97	100,49	94,43	106,93	95,99	87,90	104,82	4,50	98,84	93,90	104,03	0,456
			AUC	98,46	95,46	101,56	98,42	92,86	104,31	98,64	94,95	102,48	-0,22	98,46	95,38	101,64	0,951
5	Amlodipino-1	(12/12)	Cmax	97,05	93,23	101,03	105,66	83,38	133,89	88,20	70,88	109,75	17,16	97,05	93,16	101,11	0,660
			AUC	98,92	95,06	102,94	99,17	84,66	116,17	95,85	80,57	114,03	3,32	98,92	94,97	103,03	0,715
6	Amlodipino-2	(18/18)	Cmax	100,33	97,41	103,33	101,29	97,72	104,99	99,37	94,41	104,60	1,90	100,33	97,37	103,37	0,592
			AUC	104,63	101,57	107,79	105,03	102,05	108,11	104,23	98,59	110,19	0,73	104,63	101,52	107,84	0,831
7	Amlodipino-3	(18/18)	Cmax	105,65	98,76	113,02	104,70	92,38	118,66	106,55	99,16	114,49	-1,66	105,65	98,66	113,14	0,831
			AUC	104,79	98,58	111,39	106,91	96,04	119,01	103,88	97,11	111,12	2,73	104,79	98,49	111,48	0,699
8	Amoxicilina-1	(15/15)	Cmax	98,38	90,48	106,98	92,50	81,50	104,99	99,09	86,97	112,90	-6,59	98,38	90,39	107,08	0,520
			AUC	99,69	94,25	105,45	99,59	89,91	110,32	97,26	90,43	104,60	2,33	99,69	94,16	105,55	0,741
9	Amoxicilina-2	(15/15)	Cmax	97,11	90,06	104,71	96,37	84,31	110,15	98,72	89,58	108,80	-2,35	97,11	89,93	104,85	0,795
			AUC	105,01	100,46	109,78	103,74	97,32	110,59	106,38	98,83	114,50	-2,39	105,01	100,39	109,85	0,645
10	Aripiprazol-1	(15/17)	Cmax	110,00	101,90	118,75	100,35	92,08	109,36	121,40	107,01	137,74	-17,28	109,51	101,85	117,75	0,041
			AUC	107,64	100,42	115,37	102,48	96,14	109,23	115,54	102,08	130,77	-11,03	107,34	100,24	114,95	0,174
11	Aripiprazol-2	(16/17)	Cmax	112,79	105,96	120,05	110,60	100,81	121,34	114,57	103,95	126,27	-3,13	112,73	105,82	120,10	0,639

RESULTADOS

			AUC	103,08	100,30	105,94	99,40	95,55	103,39	106,52	102,55	110,64	-6,72	102,99	100,37	105,68	0,031
12	Atorvastatina-1	(24/24)	Cmax	101,13	88,78	115,20	102,30	84,03	124,54	100,48	83,16	121,41	1,77	101,13	88,65	115,37	0,910
			AUC	104,37	95,60	113,94	100,10	89,27	112,23	110,68	97,02	126,27	-9,55	104,37	95,59	113,95	0,343
13	Atorvastatina-2	(24/24)	Cmax	117,73	105,30	131,63	122,47	100,60	149,11	113,10	99,76	128,22	6,76	117,73	105,21	131,74	0,556
			AUC	122,71	113,42	132,77	118,67	106,29	132,49	128,99	115,52	144,02	-6,74	122,71	113,39	132,80	0,382
14	Atorvastatina-3	(16/16)	Cmax	125,68	113,27	139,45	119,04	101,57	139,51	132,69	115,28	152,73	-8,64	125,68	113,25	139,47	0,388
			AUC	118,08	112,18	124,29	117,42	107,49	128,27	118,73	112,05	125,82	-0,94	118,08	112,14	124,32	0,858
15	Atorvastatina-4	(18/18)	Cmax	89,67	76,99	104,44	90,06	71,50	113,44	91,81	71,21	118,36	-1,75	89,67	76,81	104,69	0,922
			AUC	97,82	88,60	108,01	102,56	89,07	118,09	93,88	79,09	111,43	8,62	97,83	88,52	108,10	0,485
16	Atorvastatina-5	(21/27)	Cmax	136,98	117,22	160,07	170,37	132,62	218,86	115,95	95,35	141,01	27,54	140,30	120,59	163,24	0,039
			AUC	115,03	106,79	123,92	124,90	109,77	142,10	108,03	98,76	118,16	12,50	116,08	107,84	124,95	0,106
17	Barnidipino-1	(12/12)	Cmax	86,59	67,85	110,50	69,28	46,14	104,03	108,22	80,26	145,92	-38,31	86,59	68,41	109,60	0,118
			AUC	103,83	88,49	121,82	88,45	70,50	110,98	121,88	96,04	154,68	-29,50	103,83	89,15	120,93	0,085
18	Barnidipino-2	(29/26)	Cmax	166,33	145,03	190,76	141,72	116,82	171,94	193,87	159,86	235,12	-18,98	167,65	146,32	192,08	0,057
			AUC	158,05	140,14	178,26	142,33	120,36	168,31	174,77	146,95	207,87	-13,04	158,87	140,90	179,13	0,158
19	Barnidipino-3	(21/27)	Cmax	127,55	115,53	140,83	136,97	116,64	160,85	119,46	105,23	135,61	10,70	128,67	116,46	142,16	0,252
			AUC	124,90	116,09	134,37	126,70	114,73	139,91	121,25	109,21	134,62	3,55	125,28	116,36	134,89	0,584
20	Candesartan-1	(27/21)	Cmax	88,16	83,09	93,53	87,72	81,37	94,57	89,79	81,09	99,43	-2,07	88,27	83,11	93,75	0,777
			AUC	87,68	83,86	91,67	87,18	82,38	92,25	88,99	82,36	96,15	-1,82	87,78	83,89	91,85	0,730
21	Candesartan-2	(17/19)	Cmax	116,92	108,22	126,32	114,48	102,55	127,79	120,47	106,09	136,80	-4,35	116,75	107,95	126,26	0,590
			AUC	104,11	98,40	110,15	101,01	94,31	108,19	105,32	95,44	116,21	-4,05	103,99	98,22	110,11	0,575
22	Celecoxib	(12/12)	Cmax	94,24	85,51	103,86	90,79	76,51	107,73	90,30	80,34	101,49	0,49	94,24	85,45	103,94	0,965
			AUC	101,54	95,85	107,57	108,45	99,54	118,16	95,12	87,19	103,78	12,67	101,54	95,94	107,47	0,074
23	Cetirizina	(12/12)	Cmax	105,74	97,43	114,77	100,12	94,77	105,77	108,62	90,90	129,80	-7,82	105,74	97,35	114,86	0,433
			AUC	98,85	91,25	107,09	97,49	87,71	108,36	99,10	84,91	115,67	-1,61	98,85	91,07	107,30	0,873
24	Cinitaprida	(18/18)	Cmax	98,50	89,48	108,42	98,36	85,67	112,93	98,65	84,71	114,89	-0,30	98,50	89,34	108,59	0,979
			AUC	97,78	90,35	105,82	99,65	88,19	112,59	95,14	84,89	106,63	4,50	97,78	90,35	105,82	0,630
25	Claritromicina	(18/18)	Cmax	99,09	92,83	105,78	93,34	85,32	102,11	105,21	95,76	115,58	-11,61	99,09	92,95	105,64	0,123

RESULTADOS

			AUC	95,41	89,13	102,14	90,65	81,96	100,26	100,42	91,19	110,59	-9,77	95,41	89,18	102,08	0,208
26	Ácido clavulánico-1	(14/14)	Cmax	86,98	74,99	100,88	85,00	67,01	107,82	92,83	76,58	112,54	-7,83	86,98	74,99	101,12	0,625
			AUC	91,59	78,30	107,15	93,61	75,14	116,62	95,02	76,27	118,38	-1,41	91,59	78,04	107,51	0,938
27	Ácido clavulánico-2	(15/15)	Cmax	133,83	99,53	179,95	144,10	93,70	221,61	123,33	73,19	207,82	11,69	133,83	99,05	180,83	0,681
			AUC	134,36	100,12	180,31	137,54	94,54	200,09	131,62	75,18	230,44	3,27	134,36	99,55	181,34	0,907
28	Clorfenamina	(19/17)	Cmax	75,14	70,80	79,75	74,44	67,74	81,81	76,07	70,07	82,57	-1,63	75,19	70,77	79,88	0,767
			AUC	75,06	71,05	79,30	73,61	68,50	79,10	76,90	70,10	84,35	-3,29	75,15	71,10	79,44	0,513
29	Desloratadina-1	(18/17)	Cmax	98,71	92,31	105,55	95,05	85,07	106,21	102,87	94,45	112,03	-7,73	98,81	92,40	105,66	0,325
			AUC	101,60	95,95	107,58	98,58	89,73	108,32	104,70	97,20	112,78	-5,90	101,68	96,00	107,70	0,387
30	Desloratadina-2	(18/18)	Cmax	102,75	96,45	109,46	101,28	90,64	113,18	104,59	96,90	112,89	-3,12	102,75	96,37	109,55	0,676
			AUC	107,63	102,77	112,72	103,40	95,35	112,14	112,22	106,68	118,05	-7,60	107,63	102,85	112,63	0,139
31	Dexketoprofeno-1	(15/14)	Cmax	99,08	90,46	108,51	110,48	101,16	120,65	87,43	76,90	99,41	22,05	98,68	90,77	107,28	0,020
			AUC	107,99	104,29	111,82	105,46	99,87	111,37	110,92	105,98	116,09	-4,66	108,08	104,41	111,88	0,212
32	Dexketoprofeno-2	(18/17)	Cmax	101,26	89,81	114,18	105,37	86,32	128,64	97,52	82,89	114,73	7,58	101,36	89,76	114,46	0,594
			AUC	99,61	96,32	103,01	97,54	92,83	102,48	101,05	96,46	105,86	-3,50	99,56	96,26	102,98	0,362
33	Diclofenaco	(12/18)	Cmax	87,55	79,19	96,80	91,07	76,80	107,97	84,42	73,50	96,96	6,65	98,67	94,02	103,54	0,516
			AUC	98,12	93,61	102,85	101,83	95,88	108,15	96,15	89,49	103,32	5,65	88,26	79,57	97,90	0,343
34	Digoxina	(20/20)	Cmax	92,07	84,82	99,93	87,66	78,22	98,24	98,88	88,65	110,29	-11,22	92,07	84,87	99,88	0,222
			AUC	109,81	101,08	119,30	116,10	99,16	135,94	104,53	97,49	112,07	9,53	109,81	101,09	119,29	0,294
35	Donepezilo	(17/16)	Cmax	95,92	90,13	102,07	96,56	87,68	106,34	95,25	86,93	104,36	1,31	95,90	90,02	102,16	0,857
			AUC	96,55	93,50	99,70	97,37	92,90	102,06	95,78	91,21	100,58	1,59	96,53	93,44	99,72	0,690
36	Efavirenz	(19/17)	Cmax	111,84	100,97	123,89	111,14	93,92	131,50	109,98	96,51	125,34	0,95	111,82	100,77	124,08	0,950
			AUC	105,17	98,89	111,85	106,94	95,99	119,15	102,09	95,51	109,12	4,45	105,04	98,69	111,79	0,549
37	Emtricitabina	(17/18)	Cmax	101,23	94,37	108,58	96,29	88,78	104,43	103,87	92,68	116,41	-7,43	101,11	94,23	108,50	0,411
			AUC	101,16	98,40	104,00	101,99	98,78	105,31	99,64	95,17	104,31	2,31	101,20	98,42	104,06	0,451
38	Etoricoxib-1	(15/19)	Cmax	112,57	104,27	121,54	115,04	100,72	131,38	110,01	98,81	122,47	3,97	112,83	104,36	122,00	0,641
			AUC	103,01	99,13	107,03	101,74	95,22	108,71	103,45	98,06	109,13	-1,62	102,92	98,97	107,02	0,724
39	Etoricoxib-2	(23/25)	Cmax	118,20	111,26	125,57	122,51	110,47	135,86	112,82	104,06	122,31	7,01	118,41	111,47	125,78	0,272

RESULTADOS

			AUC	100,48	97,54	103,50	102,50	97,42	107,85	98,98	95,08	103,05	3,46	100,55	97,60	103,59	0,355
40	Ezetimiba-1	(21/22)	Cmax	77,12	68,52	86,80	62,92	53,96	73,38	94,15	79,59	111,36	-31,23	76,68	68,85	85,39	0,004
			AUC	100,43	94,38	106,85	98,65	91,52	106,33	102,48	91,98	114,16	-3,77	100,37	94,27	106,86	0,614
41	Ezetimiba-2	(20/16)	Cmax	88,71	78,11	100,75	88,46	74,87	104,52	89,02	71,21	111,28	-0,56	88,74	77,92	101,07	0,968
			AUC	96,13	88,72	104,15	95,82	86,53	106,11	96,51	84,20	110,62	-0,69	96,16	88,60	104,37	0,941
42	Ezetimiba-3	(23/24)	Cmax	90,41	83,57	97,81	92,03	81,08	104,45	88,86	79,92	98,81	3,16	90,44	83,53	97,93	0,712
			AUC	96,03	89,53	102,99	95,23	85,52	106,03	96,73	87,55	106,88	-1,50	96,01	89,44	103,06	0,860
43	Flecainida	(18/17)	Cmax	105,74	101,53	110,13	103,90	96,21	112,21	107,18	103,08	111,43	-2,94	105,78	101,52	110,22	0,541
			AUC	99,25	95,73	102,89	99,07	92,91	105,63	98,64	94,58	102,88	0,42	99,24	95,66	102,95	0,911
44	Flunarizina	(15/15)	Cmax	127,59	114,35	142,37	127,96	110,57	148,09	128,80	106,38	155,94	-0,51	127,59	114,11	142,67	0,962
			AUC	141,42	126,23	158,45	139,19	119,32	162,38	142,13	116,76	173,01	-1,49	141,42	125,96	158,79	0,882
45	Hidroclorotiazida-1	(17/19)	Cmax	98,67	90,76	107,27	90,15	78,66	103,31	106,94	95,22	120,11	-16,35	98,20	90,51	106,54	0,098
			AUC	99,87	96,37	103,50	95,12	89,81	100,74	103,39	98,54	108,48	-8,16	99,64	96,28	103,13	0,060
46	Hidroclorotiazida-2	(13/22)	Cmax	102,61	95,21	110,60	96,85	88,85	105,58	105,91	94,81	118,31	-8,73	101,49	93,90	109,70	0,360
			AUC	103,62	98,78	108,69	98,17	90,11	106,94	106,90	100,66	113,54	-8,29	102,50	97,62	107,61	0,153
47	Hidroclorotiazida-3	(18/18)	Cmax	110,61	100,58	121,64	118,69	103,34	136,33	105,54	92,77	120,08	10,50	110,61	100,59	121,64	0,306
			AUC	106,19	99,98	112,79	111,06	99,16	124,40	101,91	96,48	107,64	8,09	106,19	100,02	112,75	0,236
48	Hidroclorotiazida-4	(17/19)	Cmax	95,01	89,09	101,32	97,65	89,06	107,08	95,06	86,79	104,12	2,59	95,07	89,06	101,49	0,762
			AUC	97,23	92,76	101,91	96,69	89,46	104,51	99,89	94,83	105,22	-3,20	97,13	92,62	101,87	0,541
49	Hidroclorotiazida-5	(24/24)	Cmax	108,09	99,81	117,07	115,22	100,67	131,86	102,13	93,21	111,91	11,12	108,09	99,86	117,01	0,210
			AUC	103,27	97,23	109,68	104,81	94,60	116,12	102,02	94,81	109,77	2,61	103,27	97,17	109,74	0,712
50	Hidroclorotiazida-6	(27/21)	Cmax	112,27	105,70	119,26	108,52	99,80	118,01	117,80	107,21	129,43	-7,26	112,85	106,20	119,90	0,272
			AUC	102,39	98,76	106,15	100,26	95,28	105,50	105,13	99,46	111,11	-4,62	102,69	99,03	106,49	0,281
51	Ibuprofeno-1	(12/12)	Cmax	103,77	97,22	110,76	101,06	91,53	111,57	105,97	96,86	115,98	-4,58	103,77	97,35	110,61	0,150
			AUC	97,63	93,41	102,05	96,92	89,67	104,75	98,51	93,31	104,01	-1,59	97,63	93,31	102,16	0,960
52	Ibuprofeno-2	(12/12)	Cmax	100,53	94,19	107,30	106,43	96,40	117,51	95,47	87,24	104,49	10,57	100,53	94,31	107,15	0,150
			AUC	97,02	92,82	102,40	96,58	89,35	104,38	97,30	92,16	102,73	-0,72	97,02	92,72	101,51	0,960
53	Ibuprofeno-3	(12/12)	Cmax	72,82	67,06	79,07	71,61	63,23	81,11	74,04	65,10	84,20	-2,43	72,82	66,93	79,22	0,737

RESULTADOS

			AUC	102,14	97,70	106,78	103,25	96,05	111,00	101,03	95,23	107,19	2,13	102,14	97,60	106,88	0,684
54	Ibuprofeno-4	(12/12)	Cmax	98,88	92,83	105,32	100,58	91,14	111,00	99,33	91,05	108,36	1,25	98,88	92,68	105,49	0,872
			AUC	103,42	99,53	107,46	102,76	98,09	107,65	105,32	98,62	112,49	-2,37	103,42	99,46	107,54	0,597
55	Ibuprofeno-5	(12/12)	Cmax	89,48	83,68	95,67	88,19	80,42	96,70	90,46	80,39	101,80	-2,27	89,48	83,55	95,82	0,755
			AUC	98,81	95,15	102,61	98,37	91,94	105,24	98,70	93,95	103,68	-0,33	98,81	95,06	102,71	0,942
56	Ibuprofeno S-6	(19/17)	Cmax	117,32	111,33	123,63	122,04	113,42	131,31	112,08	103,43	121,46	7,28	117,04	111,13	123,27	0,176
			AUC	103,53	98,63	108,67	107,15	99,25	115,67	99,57	93,45	106,09	7,10	103,32	98,46	108,41	0,207
57	Lecarnidipino-1	(18/18)	Cmax	82,65	68,25	100,10	88,01	72,89	106,26	73,63	51,28	105,73	14,38	82,65	68,16	100,24	0,451
			AUC	76,89	63,87	92,56	85,31	66,97	108,66	69,36	50,45	95,35	15,95	76,89	63,83	92,61	0,366
58	Lecarnidipino-2	(18/18)	Cmax	85,17	70,29	103,19	93,16	79,58	109,06	73,97	50,83	107,63	19,19	85,17	70,28	103,22	0,329
			AUC	76,82	63,69	92,67	85,05	67,16	107,71	68,42	49,34	94,89	16,63	76,82	63,66	92,71	0,347
59	Losartán	(18/18)	Cmax	107,55	87,52	132,16	92,72	65,44	131,39	98,62	87,90	110,65	-5,90	107,55	87,38	132,38	0,470
			AUC	99,79	92,24	107,97	113,09	81,19	157,52	100,21	86,47	116,12	11,37	99,79	92,12	108,10	0,880
60	Metamizol	(12/12)	Cmax	98,33	94,39	102,44	100,11	95,97	104,43	98,52	92,27	105,19	1,59	98,33	94,30	102,54	0,748
			AUC	95,91	86,66	106,15	97,05	84,24	111,80	98,45	84,51	114,69	-1,40	95,91	86,44	106,42	0,908
61	Mirtazapina	(17/18)	Cmax	101,75	93,53	110,68	107,32	92,74	124,20	96,74	87,29	107,22	10,08	101,90	93,67	110,85	0,304
			AUC	103,92	99,21	108,85	110,22	103,77	117,07	98,27	91,72	105,30	11,00	104,09	99,62	108,77	0,034
62	Montelukast	(18/18)	Cmax	96,34	88,06	105,40	99,76	87,31	114,00	90,91	80,67	102,45	8,86	96,34	88,03	105,44	0,393
			AUC	97,73	92,40	103,37	99,57	92,35	107,36	95,83	87,33	105,15	3,74	97,73	92,34	103,44	0,574
63	Nevirapina	(12/12)	Cmax	88,84	83,64	94,37	84,76	77,30	92,95	93,11	86,20	100,58	-8,35	88,84	83,72	94,27	0,187
			AUC	99,85	97,45	102,31	99,33	95,42	103,40	100,37	96,97	103,89	-1,04	99,85	97,39	102,37	0,723
64	Olanzapina-1	(14/15)	Cmax	106,83	99,91	114,24	108,58	94,87	124,27	105,32	99,03	112,01	2,85	106,89	99,84	114,44	0,698
			AUC	100,54	94,45	107,01	100,62	90,01	112,46	100,17	93,07	107,81	0,45	100,54	94,33	107,15	0,984
65	Olanzapina-2	(15/15)	Cmax	97,29	92,10	102,78	100,49	92,44	109,24	96,90	90,22	104,07	3,59	97,29	92,02	102,86	0,590
			AUC	98,85	94,80	103,08	99,25	92,01	107,06	99,02	94,02	104,30	0,23	98,85	94,72	103,16	0,965
66	Olmesartan-1	(12/12)	Cmax	119,42	108,13	131,90	118,40	103,25	135,78	120,46	101,97	142,30	-1,44	119,42	107,86	132,23	0,886
			AUC	108,27	101,72	115,24	102,87	95,08	111,29	113,95	102,52	126,65	-9,45	108,27	101,85	115,08	0,164
67	Olmesartan-2	(12/12)	Cmax	117,63	110,47	125,26	121,29	109,60	134,23	115,06	104,80	126,32	4,47	117,63	110,38	125,36	0,490

RESULTADOS

			AUC	107,77	100,30	115,79	113,82	102,10	126,88	103,02	92,32	114,96	9,21	107,77	100,35	115,73	0,249
68	Olmesartan-3	(19/17)	Cmax	87,14	81,53	93,14	83,08	74,86	92,20	91,46	84,03	99,55	-8,38	87,37	81,77	93,36	0,226
			AUC	91,58	86,75	96,67	88,36	80,54	96,94	95,54	90,22	101,17	-7,17	91,77	86,96	96,86	0,231
69	Olmesartan-4	(18/18)	Cmax	91,47	84,92	98,53	89,47	79,17	101,12	94,35	85,60	104,00	-4,88	91,47	84,86	98,61	0,556
			AUC	96,49	90,41	102,98	93,39	82,86	105,26	99,91	93,33	106,95	-6,52	96,49	90,38	103,01	0,392
70	Olmesartan-5	(17/19)	Cmax	102,49	98,41	106,73	108,08	101,71	114,86	98,33	93,04	103,92	9,15	102,76	98,83	106,84	0,053
			AUC	97,55	93,10	102,20	98,21	90,66	106,40	97,80	92,00	103,97	0,41	97,56	93,03	102,30	0,956
71	Olmesartan-6	(17/19)	Cmax	97,74	92,84	102,90	97,58	88,57	107,51	99,56	93,57	105,94	-1,98	97,68	92,71	102,92	0,731
			AUC	98,33	94,50	102,32	97,99	90,43	106,20	99,48	95,37	103,76	-1,48	98,29	94,39	102,34	0,748
72	Omeprazol-1	(18/18)	Cmax	93,62	84,59	103,62	86,53	72,76	102,91	99,47	88,91	111,28	-12,94	93,62	84,60	103,60	0,262
			AUC	93,91	88,59	99,56	90,45	83,28	98,22	96,83	89,28	105,02	-6,38	93,91	88,58	99,56	0,341
73	Omeprazol-2	(18/17)	Cmax	89,06	80,07	99,06	77,87	67,55	89,77	102,53	87,90	119,60	-24,60	89,43	80,92	98,83	0,026
			AUC	93,15	88,33	98,24	91,87	84,89	99,43	94,56	87,22	102,52	-2,69	93,19	88,31	98,35	0,657
74	Pantoprazol-1	(18/18)	Cmax	97,30	90,71	104,38	103,35	96,89	110,24	90,64	79,91	102,81	12,60	97,30	90,85	104,22	0,117
			AUC	95,30	87,52	103,78	99,07	87,84	111,73	90,79	79,58	103,59	8,27	95,30	87,48	103,82	0,398
75	Pantoprazol-2	(21/23)	Cmax	90,23	83,63	97,35	90,77	78,78	104,58	89,26	82,78	96,25	1,51	90,26	83,58	97,49	0,851
			AUC	94,24	88,56	100,28	98,80	88,77	109,95	90,10	83,68	97,01	8,70	94,44	88,77	100,46	0,217
76	Fenilefrina	(19/17)	Cmax	83,28	71,24	97,35	96,49	78,51	118,58	70,33	55,04	89,87	26,16	82,55	70,91	96,09	0,088
			AUC	83,70	76,57	91,48	86,59	77,13	97,21	80,34	69,06	93,45	6,25	83,52	76,35	91,38	0,488
77	Pioglitazona	(17/18)	Cmax	121,07	108,36	135,26	128,88	108,08	153,69	114,35	97,88	133,60	9,86	121,26	108,49	135,53	0,368
			AUC	100,40	90,00	112,01	105,66	90,22	123,74	96,52	81,73	113,99	8,83	100,52	90,02	112,26	0,482
78	Pravastatina	(18/18)	Cmax	109,87	95,19	126,81	112,45	89,72	140,95	105,23	86,19	128,49	6,10	109,87	95,00	127,06	0,704
			AUC	100,70	92,95	109,09	105,76	92,05	121,50	95,36	86,78	104,79	10,09	100,70	92,97	109,08	0,284
79	Pseudoefedrina	(12/12)	Cmax	102,83	92,14	114,77	93,80	83,33	105,58	110,84	90,63	135,55	-15,98	102,83	92,28	114,60	0,205
			AUC	101,36	95,86	107,17	105,99	97,33	115,42	95,40	88,84	102,44	10,25	101,36	96,06	106,96	0,112
80	Quetiapina-1	(16/20)	Cmax	110,49	95,91	127,29	111,04	88,76	138,91	113,22	91,90	139,48	-1,73	110,33	95,47	127,50	0,879
			AUC	103,88	98,91	109,10	103,00	93,79	113,11	104,90	98,66	111,53	-1,76	103,77	98,70	109,10	0,756
81	Quetiapina-2	(18/18)	Cmax	103,32	88,57	120,54	99,88	76,88	129,77	106,04	85,93	130,86	-5,81	103,32	88,37	120,81	0,754

RESULTADOS

			AUC	97,78	88,70	107,79	105,69	88,71	125,92	91,86	82,22	102,62	13,53	97,78	88,74	107,73	0,241
82	Rabeprazol-1	(17/18)	Cmax	88,71	80,71	97,51	92,79	78,88	109,15	87,79	78,14	98,63	5,01	88,77	80,67	97,69	0,615
			AUC	99,46	94,13	105,10	105,92	97,97	114,53	94,45	87,00	102,53	11,15	99,60	94,42	105,06	0,082
83	Rabeprazol-2	(15/18)	Cmax	88,51	81,64	95,94	85,83	72,20	102,02	91,77	85,35	98,68	-5,94	88,25	81,32	95,77	0,500
			AUC	98,60	94,27	103,12	95,53	87,96	103,74	102,17	96,85	107,80	-6,59	98,31	94,02	102,81	0,219
84	Rasagilina-1	(23/19)	Cmax	90,83	81,31	101,45	94,59	80,35	111,37	86,36	73,38	101,64	8,23	90,43	80,85	101,15	0,499
			AUC	99,13	94,92	103,53	94,69	89,39	100,30	104,94	98,29	112,05	-10,03	99,62	95,53	103,88	0,046
85	Rasagilina-2	(18/23)	Cmax	103,26	90,89	117,30	113,27	86,87	147,69	97,65	87,88	108,51	14,06	104,14	91,55	118,47	0,374
			AUC	107,41	101,26	113,94	107,32	94,79	121,51	107,56	101,66	113,80	-0,20	107,39	101,11	114,06	0,970
86	Rasagilina-3	(23/19)	Cmax	98,05	87,70	109,62	92,94	80,64	107,10	104,01	85,50	126,54	-10,92	98,58	88,09	110,32	0,405
			AUC	102,45	97,43	107,73	102,10	94,25	110,60	103,39	96,75	110,48	-1,22	102,51	97,40	107,89	0,850
87	Risedronato	(27/29)	Cmax	99,86	82,50	120,88	92,06	67,98	124,66	108,69	84,66	139,55	-15,94	99,57	82,17	120,65	0,471
			AUC	98,68	80,57	120,87	95,60	70,85	129,00	102,82	77,25	136,84	-7,14	98,55	80,31	120,94	0,765
88	Risperidona	(18/18)	Cmax	90,65	80,58	101,99	95,84	82,03	111,98	87,90	73,09	105,70	7,94	90,65	80,48	102,11	0,545
			AUC	91,51	81,69	102,50	99,45	82,63	119,68	85,54	74,08	98,77	13,91	91,51	81,72	102,47	0,271
89	Rosuvastatina-1	(16/19)	Cmax	90,98	82,99	99,74	91,42	78,88	105,96	89,98	78,31	103,39	1,44	91,04	82,90	99,98	0,887
			AUC	95,32	89,65	101,36	96,70	86,23	108,43	94,00	86,84	101,75	2,69	95,43	89,65	101,58	0,712
90	Rosuvastatina-2	(17/19)	Cmax	103,15	92,13	115,49	100,11	84,17	119,06	102,78	87,99	120,07	-2,60	103,24	92,04	115,81	0,827
			AUC	101,93	94,45	110,01	96,79	84,98	110,25	106,36	97,70	115,78	-9,18	102,20	94,69	110,31	0,302
91	Rupatadina	(12/12)	Cmax	110,01	98,91	122,35	106,83	89,37	127,71	116,38	102,59	132,03	-7,68	110,01	98,86	122,41	0,518
			AUC	104,39	96,73	112,66	99,64	89,17	111,35	111,22	99,07	124,86	-10,45	104,39	96,75	112,64	0,245
92	Sertralina	(12/12)	Cmax	107,10	99,60	115,17	100,19	89,06	112,70	114,49	104,41	125,54	-12,47	107,10	99,84	114,89	0,117
			AUC	105,10	100,52	109,90	105,73	97,50	114,66	104,48	99,16	110,09	1,13	105,10	100,41	110,02	0,825
93	Simvastatina	(21/23)	Cmax	85,08	74,84	96,71	80,04	65,83	97,32	88,39	73,19	106,75	-8,35	84,86	74,56	96,59	0,555
			AUC	98,97	86,66	113,03	94,29	78,91	112,67	107,45	87,49	131,96	-12,64	98,58	86,27	112,65	0,372
94	Sitagliptina-1	(17/13)	Cmax	105,52	98,45	113,11	106,81	94,57	120,65	103,59	97,60	109,95	2,91	105,31	98,07	113,09	0,723
			AUC	101,42	99,37	103,52	103,25	100,56	106,02	98,89	95,76	102,13	4,26	101,14	99,15	103,16	0,078
95	Sitagliptina-2	(14/14)	Cmax	100,31	91,85	109,56	107,14	95,30	120,45	93,51	80,83	108,17	13,16	100,31	91,95	109,43	0,198

RESULTADOS

			AUC	98,07	95,83	100,37	97,68	95,10	100,33	98,48	94,32	102,81	-0,80	98,07	95,79	100,41	0,773
96	Tadalafil-1	(17/17)	Cmax	89,84	83,02	97,21	94,95	86,49	104,23	87,30	75,97	100,32	7,65	89,88	83,02	97,32	0,430
			AUC	99,02	93,69	104,65	103,85	96,35	111,93	93,68	85,76	102,34	10,02	99,09	93,88	104,59	0,117
97	Tadalafil-2	(18/15)	Cmax	98,02	91,15	105,40	98,94	92,80	105,49	96,97	83,04	113,23	1,98	97,94	90,95	105,47	0,821
			AUC	105,92	101,98	110,01	105,34	99,13	111,95	106,37	100,89	112,16	-0,92	105,95	101,93	110,13	0,849
98	Tadalafil-3	(18/17)	Cmax	104,04	98,78	109,58	101,19	95,15	107,62	106,52	96,92	117,06	-4,94	104,10	98,80	109,68	0,426
			AUC	100,20	95,83	104,78	100,65	94,48	107,22	100,16	93,01	107,87	0,49	100,20	95,75	104,85	0,936
99	Tadalafil-4	(16/14)	Cmax	86,81	80,83	93,23	89,55	81,36	98,55	85,23	75,88	95,74	4,32	86,66	80,60	93,17	0,553
			AUC	93,54	88,03	99,40	98,19	91,57	105,29	87,84	78,77	97,94	10,35	93,20	87,82	98,90	0,128
100	Telmisartan-1	(26/22)	Cmax	97,64	83,33	114,41	90,65	74,67	110,05	105,47	79,94	139,16	-14,54	98,26	83,76	115,28	0,427
			AUC	105,98	99,45	112,94	104,81	96,52	113,82	107,65	96,62	119,94	-2,51	106,10	99,47	113,17	0,734
101	Telmisartan-2	(13/22)	Cmax	99,21	88,01	111,84	77,35	65,60	91,22	114,00	97,22	133,67	-34,93	94,24	83,51	106,36	0,010
			AUC	97,08	92,07	102,36	90,40	83,40	98,00	101,05	94,22	108,37	-10,63	95,65	90,58	101,01	0,098
102	Tenofovir	(17/18)	Cmax	97,29	90,89	104,14	91,68	82,63	101,72	100,73	92,17	110,07	-9,04	97,15	90,77	103,98	0,283
			AUC	98,55	93,63	103,72	96,60	89,24	104,57	99,38	92,38	106,90	-2,78	98,50	93,52	103,75	0,683
103	Torasemida	(12/12)	Cmax	104,53	97,15	112,46	99,08	93,30	105,22	110,61	95,57	128,01	-10,51	104,53	97,24	112,36	0,210
			AUC	97,02	94,21	99,91	96,54	92,72	100,52	97,35	92,42	102,54	-0,81	97,02	94,14	99,99	0,817
104	Trazodona	(18/18)	Cmax	100,91	92,69	109,87	99,59	87,21	113,72	103,23	90,77	117,40	-3,54	100,91	92,58	110,00	0,733
			AUC	104,41	98,77	110,37	111,73	101,77	122,67	98,51	92,27	105,18	11,98	104,41	98,98	110,14	0,061
105	Valsartan-1	(17/18)	Cmax	110,57	92,60	132,03	114,44	87,02	150,50	107,26	82,69	139,13	5,85	110,67	92,43	132,51	0,770
			AUC	100,21	87,03	115,40	105,49	86,07	129,31	95,49	76,75	118,80	9,72	100,36	87,01	115,75	0,559
106	Valsartan-2	(12/12)	Cmax	100,78	86,80	117,01	109,13	86,28	138,01	89,33	71,88	111,01	19,03	100,59	86,64	116,78	0,297
			AUC	100,10	89,87	111,48	101,62	86,80	118,98	96,52	81,14	114,81	5,08	100,05	89,76	111,51	0,714
107	Valsartan-3	(24/24)	Cmax	110,26	97,04	125,28	119,09	94,00	150,88	102,64	91,14	115,59	13,47	110,26	97,03	125,30	0,335
			AUC	105,86	95,12	117,81	112,80	93,26	136,44	99,83	89,08	111,88	11,52	105,86	95,11	117,83	0,345
108	Valsartan-4	(25/29)	Cmax	104,10	93,02	116,52	111,31	94,29	131,41	97,52	81,57	116,60	12,64	104,62	93,43	117,16	0,355
			AUC	104,67	94,37	116,09	111,72	98,32	126,94	99,87	83,51	119,44	10,62	105,10	94,69	116,64	0,407
109	Voriconazol-1	(12/12)	Cmax	111,38	94,78	130,89	100,67	73,85	137,25	120,88	102,38	142,72	-16,60	111,38	94,72	130,97	0,349

RESULTADOS

			AUC	111,63	101,46	122,82	118,88	98,54	143,42	104,39	95,50	114,10	11,68	111,63	101,52	122,75	0,258
110	Voriconazol-2	(18/18)	Cmax	106,10	95,07	118,40	108,17	92,56	126,41	106,13	88,74	126,93	1,77	106,10	95,02	118,46	0,893
			AUC	102,89	97,95	108,07	105,26	97,80	113,28	99,89	92,50	107,87	5,10	102,89	97,94	108,08	0,406
111	Albendazol-1	(3/9)	Cmax	91,40	67,42	123,91	105,78	6,51	1719,89	89,85	60,66	133,10	15,61	93,65	64,35	136,31	0,820
			AUC	84,16	56,11	126,24	121,04	6,98	2097,63	79,59	47,60	133,07	37,79	90,35	55,12	148,10	0,616
112	Albendazol-2	(3/9)	Cmax	121,37	90,57	162,66	104,21	7,51	1446,22	123,93	84,82	181,08	-15,27	118,05	82,31	169,32	0,787
			AUC	101,49	66,86	154,05	91,46	7,63	1095,76	103,14	57,62	184,64	-11,58	99,43	59,37	166,52	0,889
113	Amlodipino-4	(11/12)	Cmax	100,81	96,53	105,27	99,38	92,73	106,50	99,88	94,39	105,69	-0,50	100,81	96,42	105,40	0,968
			AUC	98,97	94,30	103,87	93,73	89,11	98,58	104,74	96,58	113,58	-10,80	98,67	94,34	103,20	0,046
114	Aripiprazol-3	(10/15)	Cmax	100,63	94,22	107,49	104,89	91,24	120,58	100,22	92,64	108,42	4,44	100,84	94,09	108,08	0,828
			AUC	101,46	97,35	105,75	105,09	96,92	113,95	101,25	96,55	106,18	3,61	101,60	97,28	106,12	0,814
115	Aripiprazol-4	(7/15)	Cmax	105,04	97,12	113,60	117,34	98,98	139,11	100,29	91,47	109,96	14,49	107,96	99,53	117,10	0,127
			AUC	103,07	99,25	107,03	105,86	97,53	114,91	102,12	97,42	107,05	3,46	103,68	99,49	108,04	0,509
116	Aripiprazol-5	(7/15)	Cmax	111,59	101,29	122,95	96,28	76,07	121,86	119,06	107,06	132,41	-19,73	107,46	97,34	118,63	0,087
			AUC	107,33	101,64	113,34	99,20	88,27	111,49	111,06	104,10	118,48	-10,76	105,21	99,47	111,29	0,109
117	Aripiprazol-6	(8/18)	Cmax	114,30	104,97	124,46	98,61	89,13	109,10	119,36	106,80	133,41	-17,61	110,70	101,26	121,03	0,118
			AUC	107,59	103,48	111,86	100,45	91,13	110,71	110,17	105,71	114,83	-8,79	105,88	101,70	110,23	0,085
118	Atorvastatina-6	(12/11)	Cmax	98,10	85,11	113,08	86,06	65,89	112,40	109,17	93,04	128,08	-22,34	97,33	84,46	112,15	0,202
			AUC	106,97	101,56	112,66	107,02	96,40	118,82	105,97	100,57	111,65	0,93	107,03	101,57	112,79	0,792
119	Barnidipino-4	(8/16)	Cmax	106,42	81,62	138,76	108,68	68,42	172,64	109,63	76,03	158,07	-0,80	114,90	84,31	156,60	0,367
			AUC	112,73	85,49	148,65	112,00	82,76	151,57	117,88	78,16	177,80	-4,45	110,98	82,14	149,95	0,790
120	Bosentán	(11/13)	Cmax	101,15	89,32	114,55	105,91	86,67	129,41	104,70	88,25	124,21	1,09	101,14	89,17	114,72	0,986
			AUC	97,98	90,60	105,96	99,08	88,97	110,34	101,17	89,73	114,06	-2,07	97,85	90,40	105,92	0,770
121	Citalopram	(12/11)	Cmax	102,18	96,75	107,90	96,53	91,46	101,88	108,63	98,26	120,10	-11,41	102,45	97,34	107,83	0,058
			AUC	97,90	94,02	101,93	93,55	87,66	99,84	103,01	98,60	107,61	9,37	98,11	94,52	101,83	0,040
122	Efavirenz-2	(6/6)	Cmax	85,77	76,85	95,72	95,42	82,34	110,58	79,38	65,53	96,15	16,04	85,77	77,28	95,19	0,339
			AUC	97,1	91,78	102,73	98,6	91,33	106,44	96,99	86,64	108,57	1,61	97,1	91,61	102,93	0,799
123	Efavirenz-3	(6/6)	Cmax	77,33	69,29	86,3	74,65	64,41	86,5	80,22	66,22	97,17	5,57	77,33	69,68	85,82	0,695

RESULTADOS

			AUC	91,86	86,83	97,19	90,19	83,55	97,37	94,64	84,54	105,95	4,45	91,86	86,66	97,38	0,566
125	Etoricoxib-3	(12/11)	Cmax	98,22	92,40	104,41	99,80	91,66	108,67	97,20	89,04	106,12	2,60	98,14	92,28	104,38	0,652
			AUC	98,63	95,31	102,06	99,28	94,46	104,35	97,92	93,13	102,96	1,36	98,60	95,26	102,05	0,739
125	Ezetimibe-4	(6/8)	Cmax	88,49	77,29	101,32	77,13	60,41	98,48	95,49	77,46	117,70	-18,36	87,21	76,28	99,72	0,218
			AUC	95,52	82,95	110,00	99,45	80,61	122,68	96,70	75,18	124,38	2,75	95,61	82,28	111,09	0,944
126	Ibuprofeno S-7	(10/14)	Cmax	102,43	94,99	110,47	100,35	85,42	117,90	105,17	96,42	114,71	-4,57	101,99	94,34	110,25	0,580
			AUC	101,79	98,11	105,60	102,78	93,93	112,47	101,04	97,64	104,56	1,68	101,93	98,12	105,90	0,704
127	Ibuprofeno S-8	(14/10)	Cmax	91,49	83,79	99,90	87,97	77,39	99,99	96,65	83,91	111,34	-8,68	92,21	84,30	100,87	0,377
			AUC	95,80	91,76	100,02	95,68	89,81	101,94	95,97	89,77	102,60	-0,29	95,83	91,62	100,22	0,955
128	Ibuprofeno S-9	(7/17)	Cmax	76,24	70,46	82,49	76,24	70,46	82,49	78,76	71,17	87,17	-2,52	74,54	68,35	81,28	0,294
			AUC	100,78	96,36	105,39	100,78	96,36	105,39	102,39	97,35	107,69	-1,56	99,61	94,80	104,66	0,344
120	Ivabradina	(9/14)	Cmax	105,00	95,16	115,86	103,51	89,54	119,66	107,12	92,32	124,29	-3,26	104,61	94,35	115,99	0,772
			AUC	99,30	92,45	106,67	100,09	87,37	114,67	99,75	90,74	109,65	0,34	99,33	92,13	107,09	0,979
130	Levetiracetam	(13/11)	Cmax	96,33	88,74	104,58	92,52	84,51	101,28	106,14	91,63	122,94	-13,26	96,85	89,30	105,05	0,199
			AUC	102,25	100,32	104,21	99,78	97,28	102,35	104,52	101,63	107,48	-4,54	102,45	100,67	104,26	0,035
131	Metformina	(11/13)	Cmax	94,32	86,74	102,56	98,27	84,29	114,58	90,42	81,54	100,26	7,86	94,65	86,96	103,03	0,401
			AUC	93,10	86,53	100,18	95,62	84,60	108,07	90,96	81,70	101,28	4,65	93,30	86,57	100,55	0,573
132	Olmesartan-7	(11/25)	Cmax	68,65	63,73	73,96	68,73	57,12	82,69	68,75	63,26	74,72	-0,02	68,62	63,21	74,49	0,977
			AUC	81,24	76,40	86,38	83,11	72,60	95,15	80,53	74,80	86,70	2,58	81,71	76,37	87,43	0,712
133	Olmesartan-8	(9/9)	Cmax	96,35	88,60	104,78	92,22	79,59	106,87	100,52	89,05	113,47	-8,29	96,35	88,52	104,87	0,390
			AUC	102,48	93,95	111,79	102,78	89,05	118,63	103,03	89,69	118,35	-0,23	102,48	93,65	112,15	0,982
134	Pantoprazol-3	(7/16)	Cmax	70,68	54,38	91,86	53,24	29,97	94,58	80,98	58,87	111,41	-27,74	65,83	49,70	87,20	0,259
			AUC	78,90	63,32	98,33	72,65	42,32	124,73	81,98	62,48	107,56	-9,33	77,20	60,56	98,42	0,684
135	Paracetamol	(14/10)	Cmax	103,11	91,27	116,49	92,98	83,28	103,81	119,18	91,43	155,36	-23,11	105,27	93,55	118,46	0,085
			AUC	98,42	94,01	103,03	95,77	90,41	101,45	102,25	93,74	111,54	-6,43	98,96	94,50	103,62	0,235
136	Roflumilast	(8/4)	Cmax	90,30	79,30	102,84	85,79	70,94	103,74	107,89	81,23	143,30	-21,53	93,15	81,14	106,94	0,274
			AUC	102,00	93,35	111,44	102,98	94,92	111,73	112,91	80,52	158,31	-8,53	102,39	92,58	113,24	0,848
137	Solifenacina	(15/9)	Cmax	94,23	86,83	102,27	91,43	84,62	98,79	103,90	84,36	127,96	-12,32	95,51	87,76	103,94	0,302

RESULTADOS

			AUC	94,76	88,36	101,63	92,45	85,62	99,83	101,85	86,04	120,55	-9,37	95,75	89,04	102,98	0,350
138	Tadalafilo-6	(11/7)	Cmax	97,19	89,45	105,59	99,52	90,10	109,93	93,34	76,33	114,15	6,18	96,51	88,46	105,29	0,538
			AUC	97,47	92,12	103,13	101,11	93,37	109,49	91,16	84,09	98,83	9,93	96,39	91,17	101,91	0,138
139	Tramadol	(7/17)	Cmax	104,65	95,92	114,18	110,05	90,97	133,13	102,51	91,70	114,61	6,68	106,20	96,34	117,08	0,540
			AUC	110,11	103,14	117,56	120,95	107,01	136,70	106,69	98,67	115,36	11,05	112,79	105,09	121,05	0,177

En estudios con menos de 12 hombres o 12 mujeres por grupo de sexo, un total de 5 estudios de los 25 que se revisaron (20%) mostraron diferencias mayores del 20% en los cocientes entre hombres y mujeres, representando un 8,6% del total de los 58 datos. Para C_{max} , los 4 estudios fueron "Atorvastatina-6", "Pantoprazol-3", "Paracetamol" y "Roflumilast". Para el AUC, sólo se observaron diferencias mayores al 20% en "Albendazol-1" (4% de los estudios, 1,7% de los datos).

Aplicando el modelo ANOVA que contiene la interacción sexo por formulación no se observó ningún valor de p estadísticamente significativo ($p < 0.05$) para C_{max} ya que generalmente es más variable que AUC, pero si se detectaron 3 casos de interacción sexo por formulación estadísticamente significativa para AUC: "Amlodipino-1", "Citalopram" y "Levetiracetam" (12% de los estudios, 5,2% de los datos). En total, 8 estudios (32%) y 8 datos (13.8%) mostraron interacción estadísticamente significativa o diferencias mayores del 20%.

Las figuras 15 y 16 muestran los histogramas de las diferencias entre las estimaciones puntuales de las relaciones C_{max} y AUC_t test/referencia de hombres y mujeres. El valor p de la prueba de Kolmogorov-Smirnov es de 0,712 para C_{max} y 0,883 para AUC_t . Por lo tanto, no se puede afirmar que estas diferencias no sigan la distribución Normal.

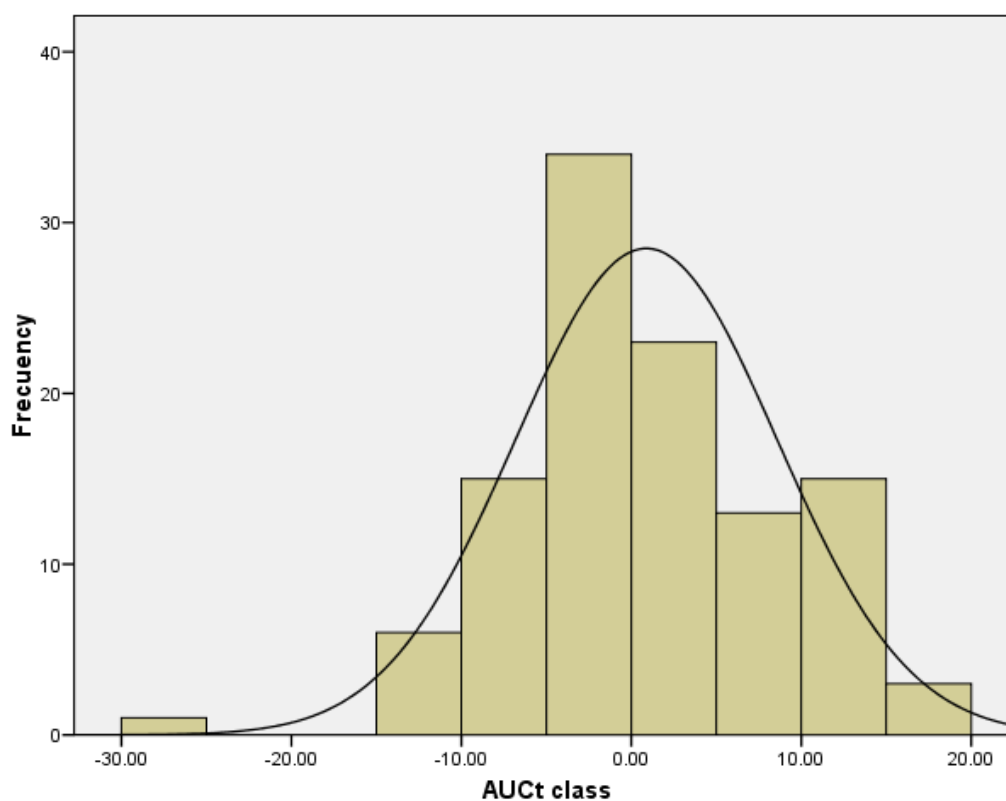


Figura 15. Histograma de las diferencias entre mujeres y hombres en las estimaciones puntuales de los cocientes test /referencia para AUC_t del análisis de los 95 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa donde participaron al menos 12 mujeres y 12 hombres.

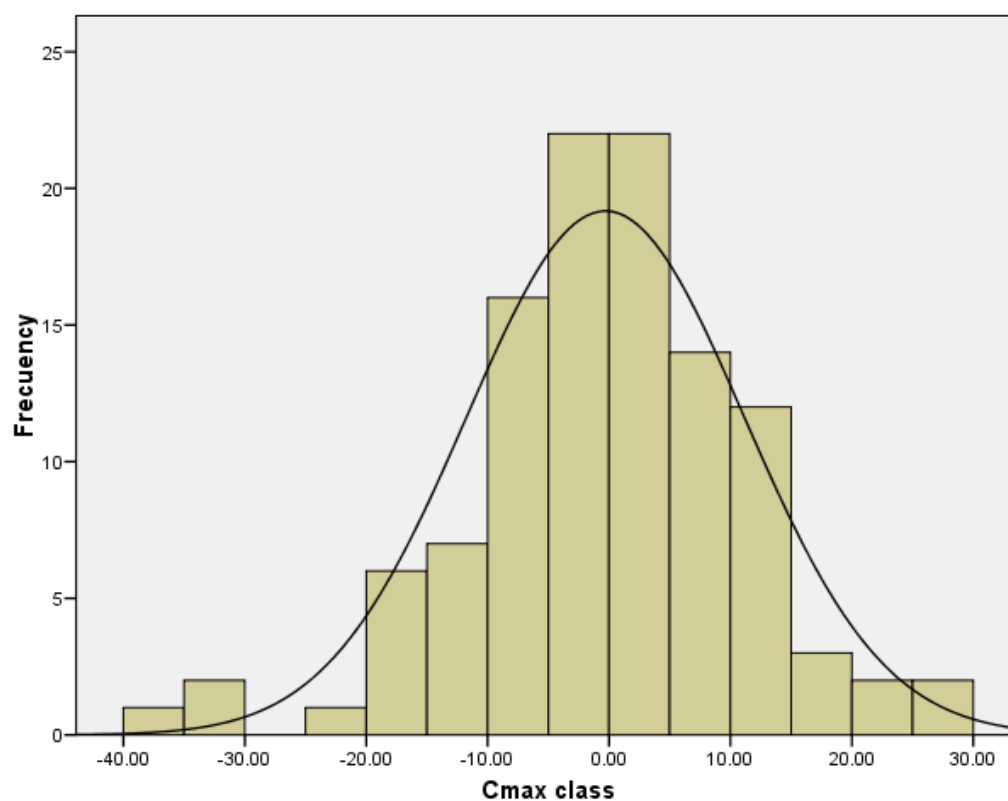


Figura 16. Histograma de las diferencias entre mujeres y hombres en las estimaciones puntuales de los cocientes test /referencia para C_{max} del análisis de los 95 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa donde participaron al menos 12 mujeres y 12 hombres.

A modo de resumen, en la tabla 5 se muestran las posibles razones por las que se encuentran diferencias mayores del 20% o se detecta interacción sexo por formulación significativa, acompañadas de sus ejemplos correspondientes, aunque esta clasificación es altamente subjetiva.

Tabla 5. Razones de detección de interacción sexo por formulación en los estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa.

Una sola nube con presencia de valores extremos	Una sola nube con prevalencia de mujeres en una zona y de hombres en otra	Una sola nube con prevalencia de mujeres en una zona y de hombres en otra y presencia de valores extremos
Albendazol-1 (AUC _t)	Agomelatina (C _{max})	Amlodipino-4 (AUC _t)
Aripiprazol-1 (C _{max})	Aripiprazol-2 (AUC _t)	Atorvastatina-5 (C _{max})
Atorvastatina-6 (C _{max})	Dexketoprofeno-1 (C _{max})	Barnidipino-1 (C _{max})
Barnidipino-1 (AUC _t)	Ezetimiba-1 (C _{max})	Citalopram (AUC _t)
Levetiracetam (AUC _t)	Fenilefrina (C _{max})	Mirtazapina (AUC _t)
Omeprazol-2 (C _{max})	Rasagilina-1 (AUC _t)	Telmisartán-2 (C _{max})
Pantoprazol-3 (C _{max})		
Paracetamol (C _{max})		
Roflumilast (C _{max})		

Las figuras de todos los parámetros farmacocinéticos donde las diferencias son mayores del 20% o donde la interacción sexo por formulación es significativa, pueden encontrarse en el anexo. Las figuras 17 a 24 muestran, respectivamente, a modo de ejemplo, la distribución individual de las diferencias test-referencia en escala logarítmica de los dos conjuntos de datos con las mayores diferencias entre hombres y mujeres de los estudios “Albendazol-1” AUC (37,79%) y “Barnidipino-1” C_{max} (38,31%) y las dos interacciones sexo por formulación más significativas en los estudios “Telmisartan-2” C_{max} (Diferencia = 34.93%; p = 0.010) y “Ezetimiba-1” C_{max} (Diferencia = 31.23%; p = 0.004) para investigar las posibles razones de las diferencias entre los grupos de hombres y mujeres.

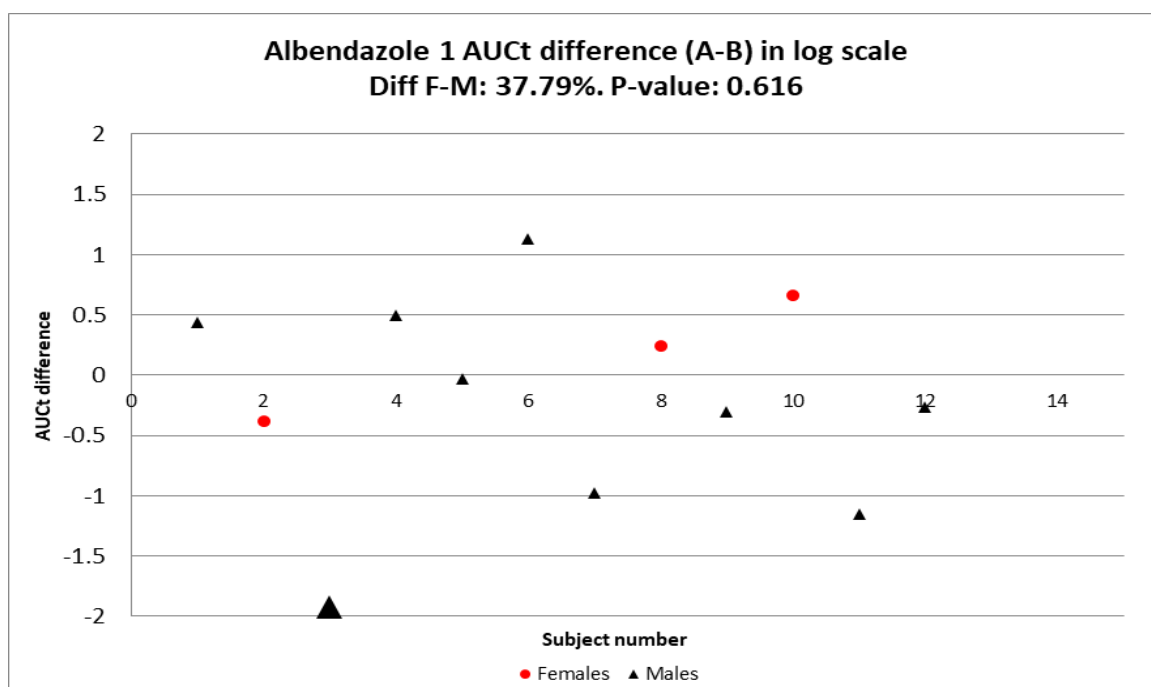


Figura 17. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Albendazol-1”.

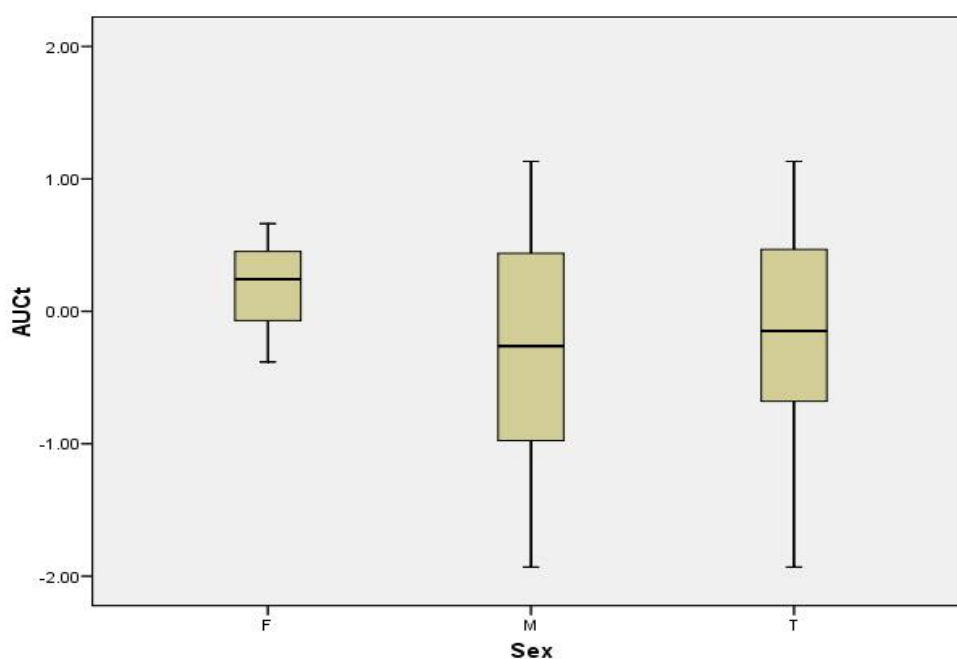


Figura 18. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Albendazol 1”.

La figura 17 muestra que la distribución de las diferencias individuales entre hombres y mujeres forma una misma nube de puntos. Sólo hay 3 observaciones en mujeres y, por tanto, la media no es muy fiable debido al pequeño tamaño muestral. En el grupo de los hombres hay una gran variabilidad (62.67%) por lo que el sujeto #3 no es detectado como un valor extremo en el diagrama de cajas (figura 18), aunque presenta una diferencia T-R muy negativa para C_{\max} (-1.93 para la diferencia T-R en escala logarítmica).

En resumen, los promedios de ambos grupos de sexo no son fiables debido al tamaño de muestra limitado para la gran variabilidad (59.18%) que presentan los datos. La diferencias se volverían más pequeñas (121.04% vs. 92.05%, es decir, 25.33%) si el sujeto #3 fuera eliminado del conjunto de datos ($p = 0.739$), aunque la interacción sexo por formulación se encuentra lejos de ser significativa.

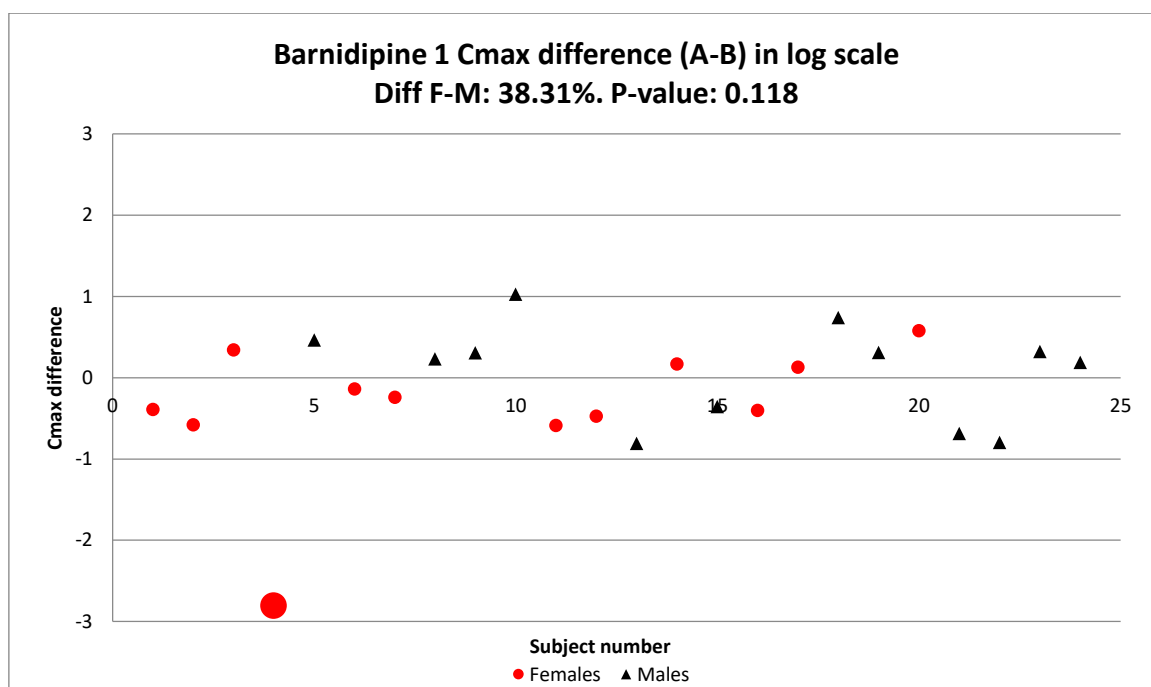


Figura 19. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en la escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio “Barnidipino-1”.

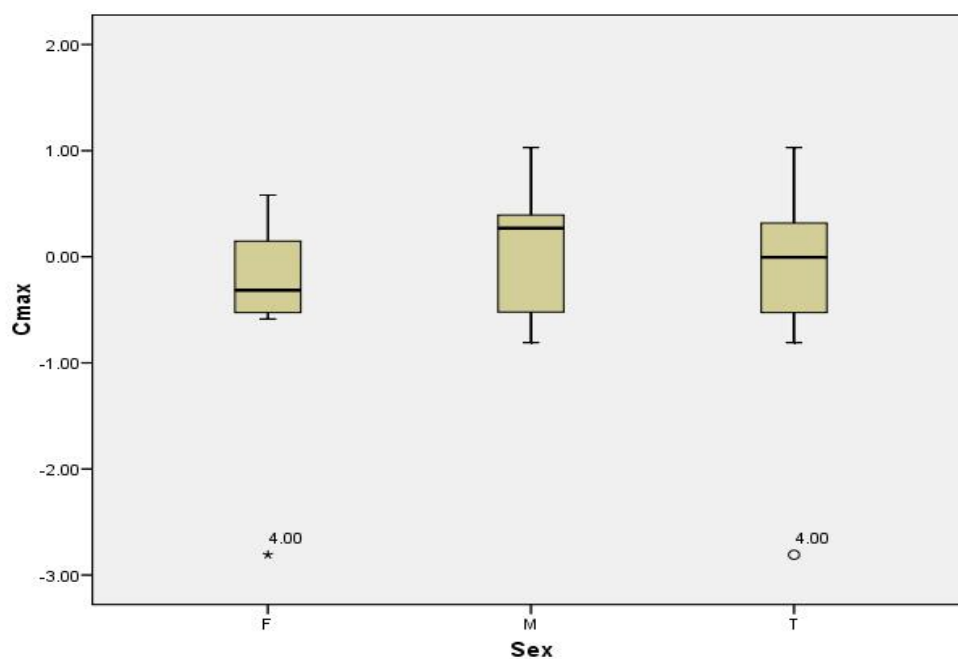


Figura 20. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Barnidipino-1”.

La figura 19 muestra que la distribución de las diferencias individuales entre hombres y mujeres se solapan, aunque el sujeto # 4 (mujer), se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R negativa para C_{\max} (-2.81 para la diferencia T-R en escala logarítmica). En consecuencia, las medias del grupo femenino se desplazan hacia abajo, lo que crea la señal de interacción sexo por formulación (dif F-M: 38.31%). La gran variabilidad en los datos no permite detectar esa diferencia como estadísticamente significativa.

El diagrama de cajas (figura 20) confirma que las cajas se encuentran superpuestas y que el sujeto 4 es un valor extremo no sólo en el grupo femenino sino en el total de la población. La diferencia se vuelve más pequeña (84.87% vs. 108.22%, es decir, 22.73%), pero sigue siendo mayor del 20%, y continúa siendo estadísticamente no significativa si se eliminara este valor extremo ($p = 0.224$). Esto indica que las mujeres tienden a tener valores más bajos y los hombres tienden a tener valores más altos, aunque el rango de valores es bastante similar. Esta distribución desigual de los hombres y mujeres parece ser causada por azar, siendo esperable en un pequeño número de estudios.

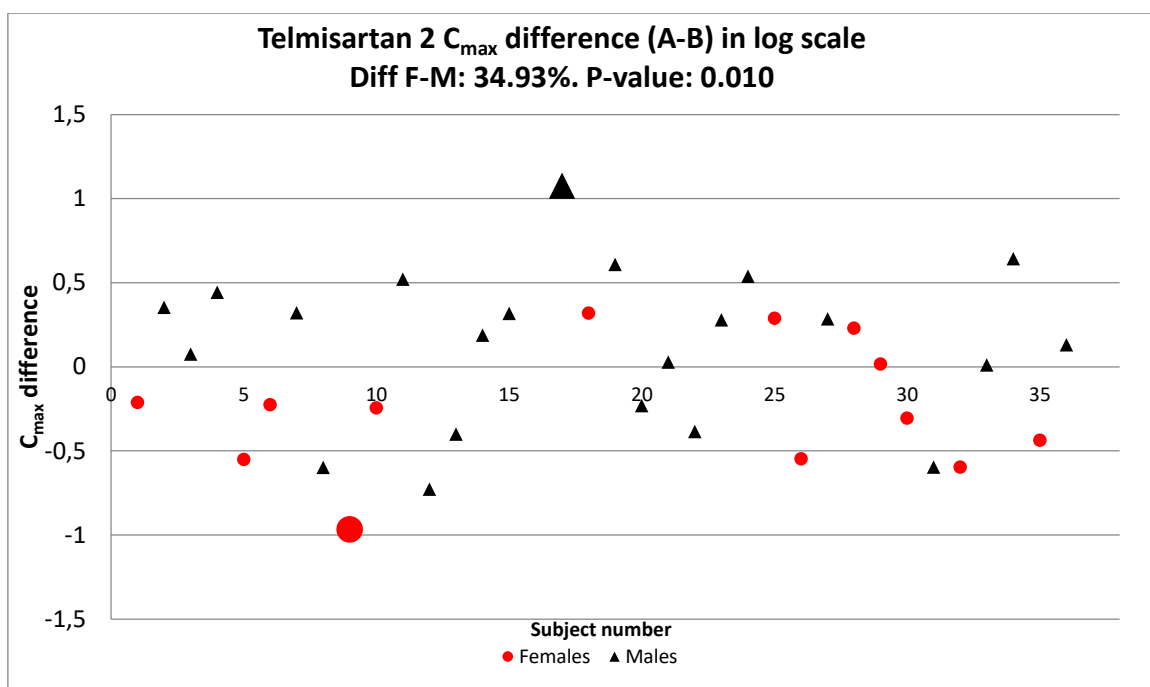


Figura 21. Distribución de las diferencias C_{\max} individuales en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio “Telmisartan-2”.

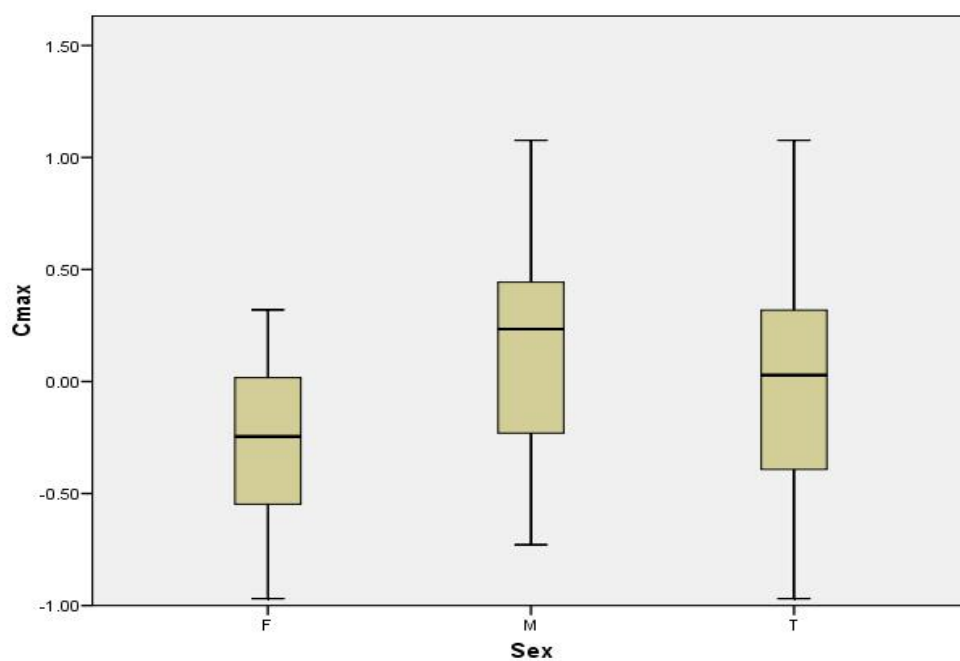


Figura 22. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Telmisartan-2”.

El diagrama de cajas (figura 22) no detecta ningún valor extremo. Sin embargo, la figura 21 muestra que el valor máximo corresponde a un hombre y el valor mínimo corresponde a una mujer. Estos dos valores parecen sesgar las medias de ambos grupos. Sin embargo, las medianas aparecen desplazadas en el diagrama de cajas, lo que indica que los hombres prevalecen en la parte superior del gráfico y las mujeres en la parte inferior de la figura 21. Excepto por el valor más bajo del sujeto #9 (mujer), todas las restantes están incluidas en el rango de valores de los hombres.

Si estos dos valores extremos se eliminasen del conjunto de datos, las diferencias se verían reducidas pero seguirían siendo mayores del 20% (82,38 frente a 109,33, es decir, 26,16%) aunque la interacción sexo por formulación ya no sería estadísticamente significativa ($p = 0,777$).

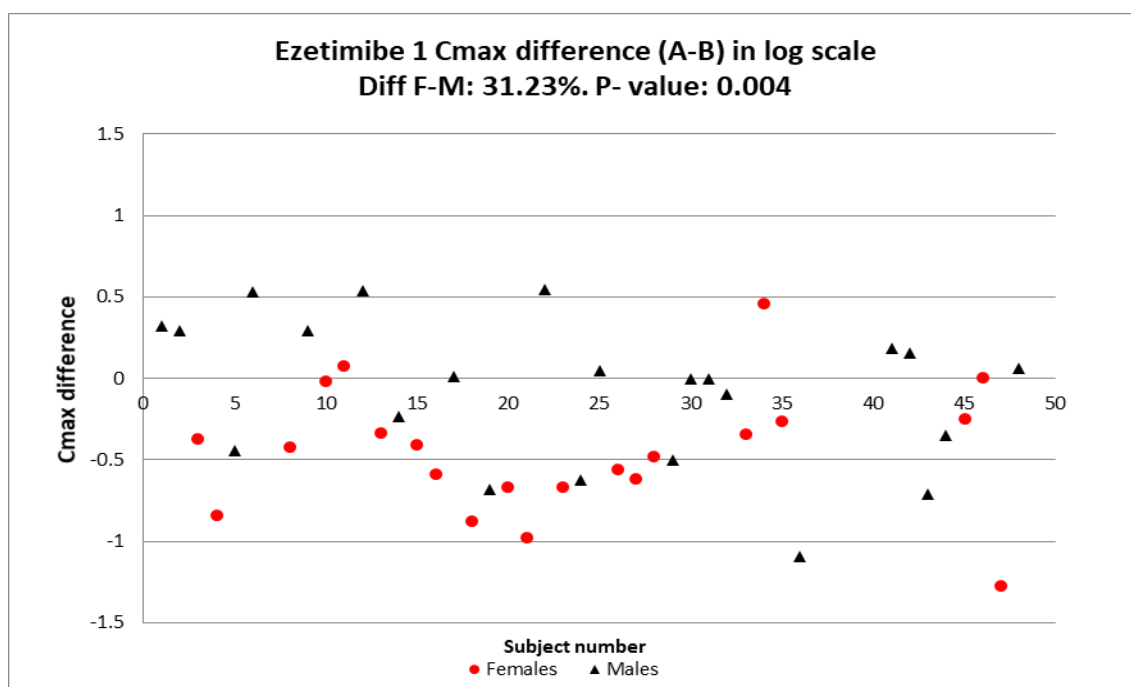


Figura 23. Distribución de las diferencias C_{\max} individuales en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Ezetimiba-1”.

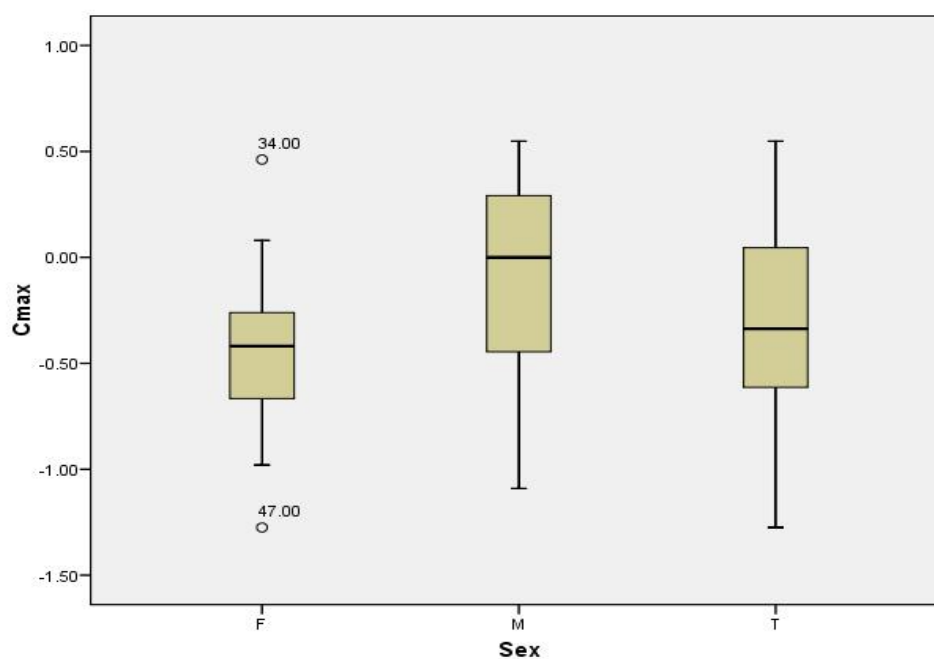


Figura 24. Diagrama de cajas de hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Ezetimiba 1”.

La figura 23 muestra la distribución de las diferencias individuales T-R en escala logarítmica de hombres y mujeres. Los hombres parecen prevalecer en la parte superior y las mujeres parecen prevalecer en la parte inferior de la nube de puntos.

El diagrama de cajas (figura 24) muestra que no hay valores extremos en toda la población y que las cajas están ligeramente superpuestas. Los hombres parecen tener valores más altos y las mujeres valores más bajos. Es importante destacar que no hay valores atípicos y las nubes se superponen. Esto podría ocurrir al azar en un pequeño porcentaje de estudios donde las diferencias más altas de T-R ocurriesen en sujetos del mismo sexo y las diferencias más bajas de T-R ocurriesen en sujetos del otro sexo. Es importante destacar que hay una mujer con una diferencia T-R tan alta como la observada en los hombres y un hombre con una diferencia T-R tan negativa como la observada en las mujeres. Por lo tanto, el rango de ambos grupos de sexo es similar.

DISCUSIÓN

1. Interacción sexo por formulación en efavirenz

La investigación de los estudios de efavirenz muestra que la interacción de sexo por formulación puede sugerirse en estudios con pequeño tamaño muestral, como en nuestro estudio piloto o el estudio publicado por Ibarra et al. (2016), pero cuando el estudio se repite con un tamaño muestral mayor, como en nuestro estudio pivotal, las grandes diferencias que parecían existir entre los grupos de sexo desaparecían. En el estudio piloto las diferencias para las estimaciones puntuales para C_{\max} en hombres y mujeres son mayores del 15% (79.38% vs. 95.42%, es decir, 16.04%), pero en el estudio pivotal esta diferencia es menor al 1% (109.98% vs. 111.14%, es decir, 0.95%, cuando se calculó en base a los valores inversos, 90.93% y 89.98%).

Esto puede ocurrir porque en estudios pequeños cualquier valor extremo puede tener una gran influencia en la estimación promedio, lo que provoca que la estimación esté sesgada. Por ejemplo, si se observa un valor extremo en el grupo de mujeres y otro valor extremo en el grupo de hombres y estos dos valores extremos tienen direcciones diferentes (es decir, uno de ellos sugiere suprabiodisponibilidad y el otro sugiere infrabiodisponibilidad), es probable que se sugiera interacción sexo por formulación, aunque en realidad sería la consecuencia de la coincidencia de dos valores extremos con direcciones diferentes pertenecientes a sujetos de diferente sexo. Esto se puede observar en nuestro estudio piloto ($n = 12$) y el estudio publicado por Ibarra et al. (2016) ($n = 14$) como se ilustra en las figuras 5 y 8. Por el contrario, cuando aumenta el tamaño de la muestra hay más sujetos para compensar los valores extremos y más oportunidades para que estos valores extremos ocurran en ambos grupos de sexo y así se puedan compensar unos con otros, como se puede observar en nuestro estudio pivotal ($n = 36$) (figura 7).

Los resultados del estudio pivotal son diferentes a los obtenidos en el estudio piloto, permitiendo observar que los estudios piloto con un tamaño de muestra pequeño pueden proporcionar resultados engañosos. De hecho, los estudios con menos de 12 sujetos no son aceptados por organismos regulatorios para la demostración de equivalencia (EMA, 2010; U.S., 2003). Los estudios piloto 2x2 de bioequivalencia con más de 12 sujetos tienen poca ganancia de precisión sobre la media, y serían necesarios diseños de 3 períodos para obtener una pequeña ganancia en la precisión sobre la varianza con un tamaño muestral superior a 12 sujetos (Julious, 2005), lo que refuerza que el análisis basado en un tamaño muestral menor de 12 sujetos no es fiable. También es posible que la biodisponibilidad relativa de los productos test y de referencia haya cambiado debido a los 11 meses transcurridos entre ambos estudios. Ambos

productos estuvieron cerca de su fecha de caducidad en el segundo estudio, pero no se detectó un comportamiento diferente *in vitro*. Sin embargo, incluso si la biodisponibilidad relativa hubiera cambiado durante este período de 11 meses, esto no afectaría necesariamente a la existencia o ausencia de una interacción sexo por formulación.

En resumen, la interacción sexo por formulación detectada en el estudio publicado por Ibarra et al. (2016) podría cuestionarse debido al tamaño muestral limitado ($n = 14$) y porque la diferencia real del 36.04% (70.5% vs. 107%), fue exagerada por los autores hasta el 52% al expresarla en términos relativos utilizando el valor más bajo de la relación test/referencia de los hombres como referencia. La explicación más probable es que sea causada por dos observaciones extremas en direcciones opuestas.

Ibarra et al. (2016) concluyeron que los hombres son más discriminativos para detectar diferencias *in vivo* en comprimidos de efavirenz. Esta afirmación podría ser debida a que es más probable que los hombres tengan el estómago vacío en comparación con las mujeres cuando la ingesta del comprimido fue dos horas después de la ingesta de alimentos, debido a diferencias farmacocinéticas entre ambos sexos relacionadas con la diferente fisiología gastrointestinal. Esta hipotética mayor sensibilidad de los hombres es irrelevante, incluso aunque fuera real, ya que los estudios de bioequivalencia cuando se recomienda tomar el producto con el estómago vacío se realizan en ayunas (después de un ayuno de al menos 8 horas) tanto en la Unión Europea como en los Estados Unidos y no dos horas después de la comida (EMA, 2010; U.S., 2003) como se hizo en el estudio de Ibarra. Además, si se reclutan sujetos de un sólo sexo, generalmente son hombres. Por lo tanto, los estudios de bioequivalencia actuales ya se realizan en la condición más discriminativa posible (ayuno) y en la población más sensible (hombres), si las conclusiones de Ibarra et al. (2016) fueran reales y no un artefacto causado por valores extremos en direcciones diferentes correspondientes a sujetos de sexos opuestos en el contexto de un estudio de tamaño muestral pequeño.

Además, no hay evidencia en contra de la suposición de que las mujeres que han ayunado durante 8 - 10 h sean igual de sensibles para detectar diferencias respecto a los hombres. En consecuencia, hombres y mujeres pueden considerarse igualmente discriminativos en los estudios realizados de acuerdo con las pautas actuales para el estado de ayuno, como se ilustra en nuestro estudio pivotal de bioequivalencia. Por lo tanto, cualquiera de los dos sexos sería adecuado para la comparación.

En nuestro estudio piloto también se observó una diferencia notable entre hombres y mujeres, aunque se realizó en ayunas y no dos horas después de la ingesta de comida. Los hombres

parecen ser más discriminativos que las mujeres, de acuerdo con lo descrito por Ibarra et al. (2016), ya que la estimación puntual de las mujeres fue cercana al 100% (95.42%) y la estimación puntual de los hombres fue del 79,38%, fuera del rango de aceptación (80-125%). Sin embargo, cuando se realizó el estudio pivotal, esta diferencia observada entre hombres y mujeres resultó ser un artefacto. Además, incluso si los datos de Ibarra et al. (2016) y de nuestro estudio piloto no fueran artefactos, los resultados no demuestran que los estudios que incluyan mujeres sean esenciales, ya que los hombres parecen ser más discriminativos.

La diferencia encontrada en nuestro estudio piloto (16,04%), también se puede considerar un artefacto dado que la comparación entre la formulación B y C no demostró diferencias entre sexos en los cocientes entre hombres y mujeres. Sería de esperar que si hay interacción sexo por formulación en los comprimidos de efavirenz, esta se manifestara con ambas formulaciones del producto test A y B, ya que eran formulaciones semejantes

La evidencia disponible hasta el momento sugiere que la existencia de interacción sexo por formulación se ha obtenido a partir de análisis exploratorios en estudios de bioequivalencia realizados en hombres y mujeres (Chen et al., 2000; Ibarra et al., 2016), donde se hizo un análisis estratificado por grupo de sexo. Es bien conocido que el análisis de subgrupos exploratorios tiene una mayor probabilidad de falsos positivos debido a las múltiples pruebas (EMA, 2014a). Por tanto, cualquier observación de un análisis exploratorio debe confirmarse en un nuevo estudio diseñado específicamente para tal fin. Los dos estudios que se realizaron en nuestro centro tienen la misma limitación porque fueron diseñados para demostrar bioequivalencia basada en el análisis combinado. Al menos la repetición de nuestro primer estudio piloto con un tamaño de muestra mayor nos da la oportunidad de confirmar que el punto medio de las estimaciones no es tan diferente como para sugerir la existencia de interacción sexo por formulación. Este problema de multiplicidad puede verse incrementado cuando se vuelven a reanalizar todos los estudios de bioequivalencia disponibles para investigar diferencias en las estimaciones puntuales en el cociente test/referencia para C_{max} y AUC entre grupos de sexo. Los estudios con mayores diferencias son publicados como evidencia de hallazgos que son debidos al azar.

Como la metodología que se ha empleado tradicionalmente para investigar la existencia de interacción sexo por formulación en estudios de bioequivalencia (Chen et al., 2000; Ibarra et al., 2016; Ibarra et al., 2017) basada en las diferencias de las estimaciones puntuales entre los grupos de sexo obtenidos por separado (análisis estratificado) es incorrecta, como, se indicó anteriormente debido al aumento de las probabilidades de obtener resultados falsos positivos,

la forma adecuada de examinar si el efecto de la formulación difiere entre los subgrupos es el test específico para la interacción entre el tratamiento y el subgrupo (Brookes et al., 2004).

Las tablas 1 y 2 muestran las estimaciones puntuales y los intervalos de confianza al 90% de la interacción sexo por formulación de ambos estudios, así como los valores correspondientes de p . Se puede observar que la estimación puntual de la interacción no concuerda con la diferencia obtenida entre los grupos de sexos debido al diferente método de cálculo, como se explica en la sección de material y métodos. En nuestros estudios, los valores de p siempre fueron mayores que 0,10 y los intervalos de confianza al 90% incluyen el valor cero para las diferencias entre los grupos de sexo. La amplitud de los intervalos de confianza al 90% para AUC fue suficientemente pequeña como para excluir diferencias relevantes entre los sexos (por ejemplo, diferencias mayores que 20%). En el caso de C_{\max} , se excluyeron diferencias superiores al 20% en el estudio pivotal (IC de -18.39% a 19.66%), pero no en el estudio piloto para ambas comparaciones, test A frente a referencia C (IC de -3.31% a 33.09%) y test B frente a referencia C (IC de -25.15% a 13.56%). Por tanto, el estudio pivotal indica que la interacción sexo por formulación para C_{\max} y AUC no es relevante (por ejemplo, no mayor del 20%) en la formulación bajo investigación. Sin embargo, podría haberse sugerido en base a las diferencias obtenidas entre ambos grupos de sexo donde se comparan dos formulaciones A y C (referencia) en el estudio piloto, ya que estas eran mayores del 15%. Hay que tener en cuenta que el tamaño de muestra del estudio pivotal no se calculó para investigar la existencia de interacción sexo por formulación o para mostrar equivalencia en cada grupo de sexo. Basándonos en las diferencias medias observadas entre el producto test y el de referencia y la variabilidad intrasujeto observada, el estudio tenía poder suficiente para mostrar equivalencia en AUC también en los subgrupos, pero no ocurre lo mismo (al menos 80%) para demostrar equivalencia en C_{\max} en toda la población o los subgrupos, debido a la gran diferencia observada entre el test y la referencia (es decir, estimaciones puntuales del 110% aproximadamente).

Además, si los estudios no tienen poder estadístico suficiente para demostrar bioequivalencia o para detectar la interacción sexo por formulación, como ocurre en todos estos estudios con tamaño de muestra pequeño o diferencias y variabilidad mayores a lo esperado, la mayoría de las veces las conclusiones serán incorrectas si utilizamos un criterio basado en el valor de p menor del 5% (Colquhoun D, 2014). Por tanto, incluso si el valor de la p de la interacción sexo por formulación fuera menor de 0,05 en el estudio publicado por Ibarra et al. (Ibarra et al., 2016), sería cuestionable que tal hallazgo fuera demostrativo de la existencia de dicha interacción ya que el estudio tiene poco poder debido al pequeño tamaño muestral.

2. Interacción sexo por formulación en estudios realizados con parches transdérmicos

En la revisión de los estudios de bioequivalencia de parches transdérmicos tenemos la oportunidad de comparar la misma formulación en dos o tres estudios diferentes, ya que para poder autorizar un parche genérico es necesario la realización de un estudio en dosis única y otro en dosis múltiple. Sin embargo, en algunos casos los estudios sólo se han realizado en hombres, por lo que en los estudios de “Buprenorfina-1” y “Rivastigmina-2” sólo disponemos de uno de ellos. En estos estudios y en los dos estudios “Fentanilo-1” no se encontraron ni diferencias mayores del 20% entre los cocientes test/referencia entre hombres y mujeres, ni se detectó interacción sexo por formulación estadísticamente significativa.

En el estudio en dosis múltiple “Fentanilo-2” las diferencias entre hombres y mujeres en las estimaciones puntuales del cociente test/referencia de $C_{min\ ss}$ fueron mayores del 20% (95,22% vs. 119,48%, es decir, -21,08%) pero cuando el estudio se realizó por dos veces en dosis única utilizando el mismo producto esta diferencia se transformó en un 1,86% y 3,26%, respectivamente. Estos resultados muestran que la interacción sexo por formulación ha ocurrido al azar en el estudio en dosis múltiple y que cuando el estudio se repite, la interacción desaparece.

En el estudio en dosis múltiple “Rivastigmina-1” la interacción sexo por formulación es estadísticamente significativa para dos parámetros farmacocinéticos (0,014 para C_{max} y 0,005 para AUC_{tau}) pero cuando el estudio se realizó en dosis única la interacción desapareció y las diferencias entre los cocientes test/referencia entre hombres y mujeres pasaron a ser menores del 10%. De nuevo, los resultados de ambos estudios muestran que la interacción sexo por formulación ocurre al azar en uno de los estudios porque no se confirma en el segundo estudio.

En la representación gráfica la distribución de las diferencias individuales test-referencia en escala logarítmica de los estudios que presentan una diferencia mayor del 20% o detectan interacción sexo por formulación no ha mostrado nubes diferentes para hombres y mujeres, lo cual hubiera sido la evidencia real de la existencia de interacción sexo por formulación. Por el contrario, en el caso de C_{min} del estudio “Fentanilo-2” se observan dos valores extremos que distorsionan la media de su correspondiente grupo de sexo, lo que se confirma mediante el diagrama de cajas (figura 10).

En el caso del estudio “Rivastigmina-1” el número de mujeres es limitado ($n=8$) y por tanto, su estimación no es muy fiable.

3. Interacción sexo por formulación en los estudios realizados en el Hospital Universitario de la Princesa

La revisión de los 120 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de la Princesa, con un total de 139 análisis (correspondientes a 278 datos para AUC y C_{max}) muestra que diferencias mayores al 20% en el cociente test/referencia entre mujeres y hombres o la presencia de interacción sexo por formulación estadísticamente significativa ocurren con una frecuencia considerable (20 de 120 estudios, 16,7%). Sin embargo, la prevalencia es mayor en estudios con pequeño tamaño muestral (32% de los estudios con menos de 12 hombres o mujeres frente al 12,6% en estudios con al menos 12 hombres y 12 mujeres).

Este porcentaje de estudios (16,7%) es menor que los descritos anteriormente: 35% (Chen et al., 2000) y 36,4% (Ibarra et al., 2016), debido al pequeño tamaño muestral de los estudios de las publicaciones anteriores. En nuestros estudios con pequeño tamaño muestral (definido arbitrariamente como menos de 12 sujetos en cualquiera de los grupos de sexo), el porcentaje de estudios que presentan interacción sexo por formulación estadísticamente significativa o señal de dicha interacción es similar a los descritos en la literatura (32%). Si consideramos los estudios con un tamaño de muestra suficientemente grande en las publicaciones anteriores, el porcentaje de estudios que presentan interacción sexo por formulación estadísticamente significativa o señal de dicha interacción son 12,5% (Chen et al., 2000) y 9% (Ibarra et al., 2016), nuestros resultados también son similares (12,6%). Por tanto, los valores publicados en la literatura están inflados porque se basan en estudios con un tamaño de muestra muy limitado. El valor de corte de 12 sujetos ha sido seleccionado arbitrariamente y corresponde al tamaño de muestra mínimo requerido por las autoridades regulatorias para realizar un estudio de bioequivalencia, pero podría ser insuficiente para proporcionar una estimación fiable de la relación test/referencia en el caso de productos con gran variabilidad intrasujeto o en estudios que presentan valores extremos (definidos como diferencias test-referencia en escala logarítmica ubicadas fuera de la nube de puntos definida por los demás sujetos mediante una simple inspección visual), que serían la principal razón de la existencia de señal de interacción sexo por formulación observada en nuestros estudios con un tamaño de muestra pequeño. En nuestros estudios, 6 casos serían debidos a valores extremos y en 2 casos además, debido a una alta variabilidad, excepto en el caso del estudio “Levetiracetam”, donde la diferencia entre hombres y mujeres es estadísticamente significativa pero clínicamente irrelevante (4,54%) posiblemente porque la variabilidad es extremadamente baja (3,84%).

En algunos estudios, se detecta interacción sexo por formulación estadísticamente significativa debido al poder estadístico excesivo (es decir, un tamaño muestral demasiado grande para una variabilidad baja) aunque la diferencia entre hombres y mujeres sea inferior al 10% (por ejemplo, “Aripiprazol-2” (6,72%), “Citalopram” (9,37%) y “Levetiracetam” (4,54%)) o cercano al 10% (por ejemplo, “Amlodipino-4” (10,80%), “Mirtazapina” (11,00%) y “Rasagilina-1” (10,03%)). Únicamente en el estudio “Aripiprazol-1” la interacción es estadísticamente significativa con una diferencia cercana al 20% (17,28%). Sólo en 5 datos de 278 (1,8%, que es menor del 5% esperado simplemente por azar), la interacción sexo por formulación estadísticamente significativa estuvo acompañada por una gran diferencia en las estimaciones puntuales entre mujeres y hombres. Por el contrario, en otros 9 casos (3,24%) grandes diferencias en las estimaciones puntuales entre mujeres y hombres no son detectadas como estadísticamente significativas en la interacción sexo por formulación debido a la falta de poder (es decir, tamaño de muestra demasiado pequeño para una variabilidad demasiado grande). Por ello, el criterio combinado empleado por Chen et al. (2000) basado no sólo en la significación estadística de la interacción sexo por formulación, sino también en la existencia de grandes diferencias entre los cocientes test/referencia de mujeres y hombres se considera apropiado.

Los histogramas de las figuras 15 y 16 muestran que las distribuciones de las diferencias entre hombres y mujeres en estudios con al menos 12 sujetos por grupo de sexo siguen una distribución similar a la distribución normal. Esto ha sido confirmado por el test de Kolmogorov-Smirnov. Por lo tanto, la aparición de grandes diferencias entre hombres y mujeres puede esperarse en las colas de la distribución, es decir, en un pequeño porcentaje de estudios al azar. La distribución individual de las diferencias test-referencia en aquellos estudios con señal de interacción sexo por formulación o interacción estadísticamente significativa no han mostrado diferentes nubes de puntos para hombres y mujeres, lo que hubiera sido la evidencia de la existencia de interacción sexo por formulación. Por el contrario, estos gráficos han mostrado una única nube con algunos valores extremos, donde uno o varios valores aberrantes pueden distorsionar la media de su correspondiente grupo de sexo (por ejemplo “Albenzazol-1”), especialmente en estudios con tamaño muestral pequeño. Este sesgo es más pronunciado cuando se presentan valores extremos en diferentes direcciones que corresponden a sujetos de diferente sexo (por ejemplo “Atorvastatina-6”). En otros casos, la distribución de ambos sexos se encuentra superpuesta en una única nube, con un rango similar de valores para mujeres y hombres, pero los valores de las mujeres prevalecen en un área de la nube y los hombres en la otra parte (por ejemplo, “Ezetimiba-1” C_{max}). Esto podría considerarse como existencia real de

interacción sexo por formulación, pero en nuestra opinión es simplemente debido al azar (6 estudios / conjuntos de datos, 5,00% de los estudios y 2,16% de los conjuntos de datos).

Sería necesario repetir los estudios para poder confirmar que estas grandes diferencias entre hombres y mujeres y/o la interacción estadísticamente significativa desaparecen. Esta evidencia podría estar disponible en grandes compañías farmacéuticas de genéricos que repiten los estudios con los mismos productos genéricos y de referencia adquiridos en diferentes jurisdicciones (por ejemplo, Estados Unidos, la Unión Europea y Canadá). Si se observase presencia de interacción sexo por formulación repetidamente, no se puede suponer que sea debido al azar y podrían ser necesarios cambios regulatorios. Desafortunadamente, este tipo de evidencia no está disponible en todos nuestros estudios. Sin embargo, en dos estudios que presentaban señal de interacción sexo por formulación, la misma formulación se probó nuevamente.

El primero es el caso del efavirenz que ya se ha descrito anteriormente. También disponemos de un producto con pantoprazol que se investigó dos veces. En el estudio “Pantoprazol-3” ($n = 23$), las diferencias observadas en las estimaciones puntuales entre hombres y mujeres fueron del 27,74%, y se transformaron en un 1,51% en el estudio “Pantoprazol-2” ($n = 44$).

En el estudio “Pantoprazol-3” la distribución de las diferencias individuales T-R en escala logarítmica en hombres y mujeres se encuentran solapada, pero los sujetos #29 (hombre) y #17 (mujer) se comportan como valores extremos con una diferencia T-R negativa para C_{\max} en escala logarítmica (figuras 53 y 54 del anexo). En consecuencia, las medias de los grupos de sexo se desplazan en la misma dirección (hacia abajo). Sin embargo, la presencia de un sólo valor extremo tiene un gran impacto en el grupo de mujeres porque en el estudio sólo participaron un total de 7 mujeres, en contraste con los 16 hombres. La estimación sesgada en el grupo de mujeres es probablemente la causa de las diferencias observadas en las estimaciones puntuales (27,74%). Además, los valores máximos se observan en dos sujetos hombres (#28 y #36).

Esta investigación también podría haber abordado este tema mediante la realización de un meta-análisis para obtener una estimación global de la interacción sexo por formulación de todos los estudios realizados en la Unidad de Fase I del Hospital Universitario de la Princesa. Sin embargo, este meta-análisis se basaría en la asunción de que la interacción es semejante en todos los fármacos y formulaciones y esta asunción sería muy cuestionable. Por tanto, hemos enfocado la investigación hacia las limitaciones metodológicas de la evidencia disponible hasta el momento y hacia la evidencia disponible en nuestros estudios donde no se confirman los hallazgos que pudieran sugerir la existencia de una interacción sexo por formulación real. Por

último, hemos analizado la distribución de las diferencias en los cocientes test/referencia de los parámetros farmacocinéticos entre subgrupos para confirmar que la existencia de interacción sexo por formulación es algo esperable debido al azar.

4. Necesidad de incluir hombres y mujeres en los estudios de bioequivalencia

En resumen, la evidencia obtenida en nuestras investigaciones no sugiere la existencia real de interacción entre sexo y formulación, aunque es frecuente encontrar diferencias en los análisis estratificados por sexo que pueden llegar a ser estadísticamente significativos en algunos casos. Si en el futuro se llegase a demostrar que los resultados de bioequivalencia (es decir, el cociente test/referencia de C_{max} y AUC) obtenidos en un sexo no son similares a los obtenidos en el otro sexo cuando se repite el estudio, las guías regulatorias que aceptan el uso de cualquiera de los sexos (EMA, 2010; Health Canada, 2012) o que recomiendan el uso combinado de hombres y mujeres (U.S., 2003) deberían modificarse, ya que habría que demostrar equivalencia en cada grupo de sexo por separado. El reclutamiento de hombres y mujeres y el análisis combinado (U.S., 2003) no sería la solución a este problema, ya que los estudios realizados tanto en hombres como en mujeres que muestran una interacción sexo por formulación significativa no son interpretables, porque los resultados promedio no son representativos de los resultados de cada grupo de sexo. Sin embargo, actualmente no hay evidencia que requiera tal modificación de las guías

Algunos autores han sugerido incorrectamente la necesidad de incluir hombres y mujeres en estudios de bioequivalencia simplemente porque presentan exposiciones diferentes cuando se administra el producto de referencia (Koren G et al., 2013a). Aunque es obvio, parece necesario resaltar el hecho de que la existencia de diferencias relacionadas con el sexo en la farmacocinética de muchos fármacos no implica necesariamente la existencia de interacción sexo por formulación porque si un fármaco presenta diferencias en los parámetros farmacocinéticos entre hombres y mujeres, lo mismo se espera para el producto test que para la referencia. La interacción sexo por formulación en bioequivalencia significa que, hipotéticamente, un producto test podría ser bioequivalente al producto de referencia en un grupo de sexo (por ejemplo, hombres) y bioinequivalente en el otro grupo (por ejemplo, mujeres); o bioinequivalente en ambos grupos, pero equivalente en el análisis combinado (por ejemplo, si el producto test fuera un 30% más biodisponible en los hombres y un 30% menos biodisponible en las mujeres, un estudio equilibrado con respecto al sexo de los participantes reclutados sería capaz de mostrar la equivalencia de la media).

También es importante aclarar que incluso si la variabilidad en las mujeres es mayor que en los hombres, lo que puede ocurrir en ciertos casos, esto no sería una razón para incluir mujeres como lo sugieren algunos autores (Koren G et al., 2013a) porque no estamos interesados en

hacer la demostración de bioequivalencia más difícil, sino en detectar diferencias si realmente existen. Cuando la variabilidad es mayor, es necesario reclutar a más sujetos, lo que puede considerarse poco ético ya que más sujetos están expuestos innecesariamente a los riesgos del estudio. Es importante destacar que, una vez que se recluta un número suficiente de sujetos, la estimación sería la misma ya que la mayor variabilidad no sesga los resultados del estudio (imprecisión no es sinónimo de inexactitud).

CONCLUSIONES

1. La revisión de los 120 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa muestra que las diferencias entre hombres y mujeres en el cociente test/referencia de los parámetros farmacocinéticos se distribuye de forma parecida a la distribución normal y, por tanto, en algunas ocasiones, que son poco frecuentes y debidas al azar, se pueden observar grandes diferencias, aunque en la mayoría de los casos las diferencias son irrelevantes.
2. La revisión de los 120 estudios de bioequivalencia realizados en el Hospital Universitario de La Princesa muestra que el porcentaje de estudios que sugieren la existencia de interacción sexo por formulación o que detectan una interacción sexo por formulación estadísticamente significativa depende del tamaño muestral de los estudios, con menor frecuencia en el caso de estudios de gran tamaño.
3. El porcentaje de estudios que sugieren la existencia de interacción sexo por formulación o que detectan una interacción sexo por formulación estadísticamente significativa es semejante en nuestros estudios y en los estudios descritos en la literatura.
4. Los estudios de bioequivalencia con pequeño tamaño muestral pueden proporcionar estimaciones engañosas de la interacción sexo por formulación dado que las estimaciones puntuales de los subgrupos no son fiables cuando su tamaño es menor de 12 sujetos.
5. El análisis gráfico de la distribución de las diferencias individuales de los parámetros farmacocinéticos en escala logarítmica muestra que las nubes de puntos de hombres y mujeres no se encuentran separadas. Por el contrario, las diferencias entre sexos están originadas por valores extremos que sesgan las estimaciones puntuales o por una distribución desigual dentro de la nube que parece estar causada por el azar.
6. En aquellos productos en los que disponemos de varios estudios ("Efavienz-2", "Pantoprazol-3", "Fentanilo-2" y "Rivastigmina-1") no se han confirmado las diferencias entre hombres y mujeres de los cocientes test/referencia, lo que pone de manifiesto que esos hallazgos se deben al azar y no son reproducibles.

7. Para afirmar la existencia de interacción sexo por formulación se debería disponer de estudios con un tamaño muestral suficiente para investigar su existencia y no sólo con poder para demostrar equivalencia en el análisis combinado de hombres y mujeres. Además, el análisis no debería basarse en las diferencias observadas entre los subgrupos, sino en el intervalo de confianza de la interacción sexo por formulación.

8. En la actualidad no hay evidencia que sugiera la existencia de interacción sexo por formulación porque los resultados de los estudios que lo sugieren no se han confirmado en otro estudio, se trata generalmente de estudios con escaso tamaño muestral y la metodología empleada es estadísticamente incorrecta. Por tanto, no hay necesidad de modificar los requisitos regulatorios de la Unión Europea sobre el sexo de los sujetos a incluir en los estudios de bioequivalencia, pudiendo aceptarse estudios en ambos grupos de sexo o en un único grupo.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis, como toda obra de investigación, no puede ser sino el resultado de muchas personas que tanto profesional como personalmente me han apoyado y han colaborado en su realización. Sin la ayuda entusiasta y desinteresada de todas ellas no estaría escribiendo estas palabras.

En primer lugar debo agradecer su colaboración a los voluntarios que han participado en los ensayos clínicos de bioequivalencia y a todos los profesionales que trabajan en el Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa, porque sin su labor de base esta investigación no hubiera sido posible. Gracias también a los profesionales de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios por darme la oportunidad de haber podido aprender con ellos a lo largo de mi periodo de formación.

Gracias a mis dos directores de tesis, Francisco Abad Santos y Alfredo García Arieta por haberme iniciado en el mundo de la investigación científica; por vuestra constancia y capacidad de trabajo, que siempre he admirado; y por vuestra paciencia, que siempre es muy necesaria cuando las cosas no salen como a uno le gustaría. Gracias también a Jesús Garrido por tu disponibilidad para solucionar cualquier cuestión estadística.

Deseo expresar mi agradecimiento de un modo particular a Alfredo García Arieta, por su ayuda durante mi rotación en la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y por la oportunidad que me brindaste de publicar mi primer artículo, espero que le sigan otros. Es todo un honor poder aprender de ti. Sin tu ayuda no hubiera sido posible esta tesis.

Gracias a Carlos Lens, por tus consejos, experiencia y sabiduría y sobre todo por tu disposición a enseñar y ayudar.

Gracias a mis dos amigas de toda la vida, Jeny y Laura, por animarme y convencerme de que merece la pena seguir esforzándose.

Gracias a mis padres. Una vez más me habéis demostrado lo importante que soy, cada éxito no sería igual sino pudiera compartirlo con vosotros. Sin vuestro apoyo y sacrificio, no hubiera llegado hasta aquí. Os lo debo todo.

Gracias a Julio, mi marido, porque sin darme cuenta, te has convertido en la persona más importante en mi vida, sabes que sin ti, nunca hubiera empezado este proyecto y que sin tu ayuda nunca lo hubiera terminado. Gracias en definitiva por hacerme feliz cada día y ayudarme a cumplir otro sueño más.

BIBLIOGRAFÍA

Alfonso-Cristancho R, Andia T, Barbosa T, Watanabe JH. Definition and Classification of Generic Drugs Across the World. *Applied health economics and health policy*. 2015;13(1):5-11.

Almeida S, Filipe A, Almeida A. Comparative bioavailability of two formulations of levofloxacin and effect of sex on bioequivalence analysis. Data from a randomised, 2 x 2 crossover trial in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung*. 2005;55(7):414-9. DOI: 10.1055/s-0031-1296880.

Anderson GD. Sex and racial differences in pharmacological response: where is the evidence? Pharmacogenetics, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *J Women's Health* 2005;14(1):19-29.

Araín M, Campbell MJ, Cooper CL, Lancaster GA. What is a pilot or feasibility study? A review of current practice and editorial policy. *BMC medical research methodology*. 2010;10:67.

Ashiru DA, Patel R, Basit AW. Polyethylene glycol 400 enhances the bioavailability of a BCS class III drug (ranitidine) in male subjects but not females. *Pharm Res*. 2008 Oct;25(10):2327-33. doi: 10.1007/s11095-008-9635-y. PubMed PMID: 18600434.

Beierle I, Meibohm B, Derendorf H. Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1999;37:529-47.

Blume HH, Midha KK. Bio-international 92, conference on bioavailability, bioequivalence, and pharmacokinetic studies. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1993;82(11):1186-9.

Boddy AW, Snikeris FC, Kringle RO, Wei GC, Oppermann JA, Midha KK. An approach for widening the bioequivalence acceptance limits in the case of highly variable drugs. *Pharm Res*. 1995 Dec;12(12):1865-8. PubMed PMID: 8786957.

Boehm G, Yao L, Han L, Zheng Q. Development of the generic drug industry in the US after the Hatch-Waxman Act of 1984. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2013;3(5):297-311.

Brookes ST, Whitely E, Egger M, Smith GD, Mulheran PA, Peters TJ. Subgroup analyses in randomized trials: risks of subgroup-specific analyses; power and sample size for the interaction test. *J Clin Epidemiol*. 2004 Mar;57(3):229-36. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2003.08.009.

Caves RE, Whinston MD, Hurwitz MA, Pakes A, Temin P. Patent expiration, entry, and competition in the US pharmaceutical industry. *Brookings papers on economic activity Microeconomics*. 1991;1991:1-66.

Chen ML, Lee SC, Ng MJ, Schuirmann DJ, Lesko LJ, Williams RL. Pharmacokinetic analysis of bioequivalence trials: implications for sex-related issues in clinical pharmacology and biopharmaceutics. *Clin Pharmacol Ther*. 2000 Nov; 68(5):510-21. PubMed PMID: 11103754.

Chen M, Roger L, Williams, MD. Women in Bioavailability/Bioequivalence Trials — A Regulatory Perspective. *July 1995Therapeutic Innovation and Regulatory Science* 29(3):813-820. DOI10.1177/009286159502900304.

Chow S-C, Wang H. On sample size calculation in bioequivalence trials. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2001;28(2):155-69.

Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.

Colquhoun, D. An investigation of the false discovery rate and the misinterpretation of the p-values. 2014. *R Soc Open Sci*. 19;1(3):140216. DOI: 10.1098/rsos.140216

Communities CoE. Investigation of Bioavailability and Bioequivalence. 1991 December 1991. Report No.

Datz FL, Christian PE, Moore J. Gender-related differences in gastric emptying. J Nucl Med 1987;28:1204-7.

Davit B, Braddy AC, Conner DP, Yu LX. International guidelines for bioequivalence of systemically available orally administered generic drug products: a survey of similarities and differences. The AAPS journal. 2013;15(4):974-90.

Declaración de Helsinki de la AMM. Principios éticos para las investigaciones médicas con seres humanos. Finlandia, Junio 1964.Revisada en Octubre 2013, Brasil.

<http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf>.

Díez-Rodríguez V. Genéricos: claves para su conocimiento y comprensión: Editores Médicos, SA; 1999.

Diliberti C. Why bioequivalence of highly variable drugs is an issue. Advisory Committee for Pharmaceutical Sciences Meeting Transcript, April 14, 2004.

Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 April 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use. Official Journal of the European Communities L 311, 67–128. 28 Nov 2004.
http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2009/10/WC500004481.pdf.

Directiva 65/65/CEE del Consejo, de 26 de enero de 1965, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas, sobre especialidades farmacéuticas

<https://publications.europa.eu/es/publication-detail/-/publication/a761f2b9-d398-4fc5-a2fe-f1f7bebdb9b4/language-es>

el-Tahtawy AA, Jackson AJ, Ludden TM. Comparison of single and multiple dose pharmacokinetics using clinical bioequivalence data and Monte Carlo simulations. *Pharm Res.* 1994 Sep;11(9):1330-6. PubMed PMID: 7816765.

European Commission Enterprise Directorate-General: Marketing Authorisations; VOLUME 2A Procedures for marketing authorisation. Brussels, 2005. Available at: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-2/a/vol2a_chap1_2005-11_en.pdf.

European Medicines Agency. Concept paper on the development of product-specific guidance on demonstration of bioequivalence. London, June 2013 EMA/CHMP/423137/2013. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/07/WC500147001.pdf.

European Medicines Agency. Guideline on the Bioanalytical Method Validation. London, 21 July 2011. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf.

European Medicines Agency. Guideline on the investigation of bioequivalence. London, 2 January 2010. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/ Corr **. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf.

European Medicines Agency. Guideline on the investigation of subgroups in confirmatory clinical trials (draft), 23 January 2014. EMA/CHMP/539146/2013. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/02/WC500160523.pdf.

European Medicines Agency. Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms. London, 20 November 2014. EMA/CPMP/EWP/208/96 Corr 1 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/11/WC500177884.pdf

European Medicines Agency. Guideline for good clinical practice E6 (R2). London, 1 December 2016. EMA/CHMP/ICH/135/1995 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002874.pdf.

European Medicines Agency. Questions & Answers: positions on specific questions addressed to the Pharmacokinetics Working Party (PKWP). 11. Number of subjects in a two-stage bioequivalence study design. London, 19 November 2015. EMA/618604/2008 Rev. 13. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002963.pdf Accessed 01.10.2017.

European Medicines Agency. Questions & Answers on the Bioavailability and Bioequivalence Guideline. London, 27 July 2006. EMEA/CHMP/EWP/40326/2006. <https://pdfs.semanticscholar.org/009c/1800db32ed76187754729a2a10bf24518900.pdf>.

European Medicines Agency. Tadalafil film-coated tablets 2.5, 5, 10 and 20 mg product-specific bioequivalence guidance*. London, May 2015 EMA/CHMP/315234/2014 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/05/WC500207105.pdf.

European Medicines Evaluation Agency. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. London, 26 July 2001. CPMP/EWP/QWP/1401/98.

Fernández-Teruel C, Nalda Molina R, González-Alvarez I, Navarro-Fontestad C, García-Arieta A, Casabó VG, Bermejo M. Computer simulations of bioequivalence trials: selection of design and analyte in BCS drugs with first-pass hepatic metabolism: linear kinetics (I). *Eur J Pharm Sci*. 2009 Jan 31;36(1):137-46.

Fletcher C, Acosta E, Strykowski J. Gender differences in human pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Adolesc Health* 1994;15(8):619-29.

Florez J, Armijo JA, Mediavilla Á. *Farmacología humana*. Farmacología humana. 1992.

Frezza M, di Pavoda C, Pozzato G, et al. High Blood alcohol levels in women: the role of gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. *N Engl J Med* 1990;322:95-9.

Fuglsang A. Pilot and Repeat Trials as Development Tools Associated with Demonstration of Bioequivalence. *The AAPS journal*. 2015;17(3):678-83.

García-Arieta A. The failure to show bioequivalence is not evidence against generics. *British journal of clinical pharmacology*. 2010;70(3):452-3.

García-Arieta A, Abad-Santos F, Rodríguez-Martínez MA, Varas-Polo Y, Novalbos J, Laparidis N, Gallego-Sandín S, Orfanidis K, Torrado J. An eutomer/distomer ratio near unity does not justify non-enantiospecific assay methods in bioequivalence studies. *Chirality*. 2005 Oct;17(8):470-5.

García-Arieta A, Gordon J. Bioequivalence requirements in the European Union: critical discussion. *AAPS J*. 2012 Dec;14(4):738-48.

García-Arieta A, Solá CA, García CH. Medicamentos genéricos: evidencias y mitos. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*. 2010;34(3):71-82

Giacomoni PU, Mammone T, Teri M. Gender-linked differences in human skin. *J Dermatol Sci*. 2009 Sep;55(3):144-9.

Gorski JC, Jones DR, Haehner-Daniels BD, Hamman MA, O'Mara EM Jr, Hall SD. The contribution of intestinal and hepatic CYP3A to the interaction between midazolam and clarithromycin. *Clin Pharmacol Ther*. 1998 Aug;64(2):133-43.

Gosai P, Ducharme MP, Godfrey AR, Freeman JC, Monif T, Kumar KS, Kumar S, Mudnaik R, Katikaneni P. Bioequivalence of oxycodone hydrochloride extended release tablets to marketed reference products OxyContin® in Canada and US. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2013 Nov;51(11):895-907.

Greenblatt DJ, Sellers EM, Shader RI. Drug therapy: drug disposition in old age. *N Engl J Med* 1982;306(18):1081-8.

Gross J, Friedman R, Azevedo M, et al. Effects of age and sex on glomerular filtration rate measured by 51Cr-EDTA. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:129-34.

Harris RZ, Benet LZ, Schwartz JB. Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs* 1995; 50:222-39.

Hauck W, Parekh A, Lesko L, Chen M, Williams R. Limits of 80%-125% for AUC and 70%-143% for Cmax. What is the impact on bioequivalence studies? *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2001;39(8):350-5.

Hauschke D. Letter to the Editor: A Note on Sample Size Calculation in Bioequivalence Trials. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2002;29(1):89-94.

Health Canada. Draft Guidance Document. Considerations for Inclusion of Women in Clinical Trials and Analysis of Data by Sex. Ottawa; Health Canada; 2012. https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/dhp-mps/alt_formats/pdf/consultation/biolog/draft_iwct_ebauche_ifec/draft_ebauche_iwct_ifec-eng.pdf

Health Canada. Guidance Document: Conduct and Analysis of Comparative Bioavailability Studies. Adopted Date: 2012/02/08. Effective Date: 2012/05/22. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/drug-products/applications-submissions/guidance-documents/bioavailability-bioequivalence/conduct-analysis-comparative.html>.

Hong-Guang X, Xiu C. Sex differences in pharmacokinetics of oral propranolol in healthy Chinese volunteers. *Acta Pharmacologica Sinica* 1995;16(5):468-70.

Ibarra M, Magallanes L, Lorier M, Vázquez M, Fagiolino P. Sex-by-formulation interaction assessed through a bioequivalence study of efavirenz tablets. *Eur J Pharm Sci.* 2016 Mar 31;85:106-11.

Ibarra M, Vázquez M, Fagiolino P. Sex Effect on Average Bioequivalence. *Clin Ther.* 2017 Jan;39(1):23-33.

Jacobi U, Gautier J, Sterry W, Lademann J. Gender-related differences in the physiology of the stratum corneum. *Dermatology.* 2005;211(4):312-7.

Julious, S.A. Sample size of 12 per group rule of thumb for a pilot study. 2005. *Pharmaceutic. Statist.* 4: 287-291.

Kates RE, Keefe DL, Schwartz J, Harapat S, Kirsten EB, Harrison DC. Verapamil disposition kinetics in chronic atrial fibrillation. *Clin Pharmacol Ther.* 1981 Jul;30(1):44-51.

Kieser M, Rauch G. Two-stage designs for cross-over bioequivalence trials. *Stat Med.* 2015 Jul 20;34(16):2403-16. doi: 10.1002/sim.6487.

Koren, G. Sex dependent Pharmacokinetics and Bioequivalence. Time for Change. 2013. *J. Popul Ther Clin. Pharmacol.* 20(3): 358-361. pub 2013 Nov 6.

Koren, G., Nordeng, H., MacLeod, S. Gender Differences in Drug Bioequivalence. Time to Rethink Practices. 2013a. *Clin. Pharmacol. Ther.* 93(3): 260-262.

Koren, G., Vrandeć, M., Gill, S.K., Macleod, S. Sex differences in the Pharmacokinetics and Bioequivalence of delayed-release Combination of Doxylamine Succinate-Pyridoxine Hydrochloride, Implications for Pharmacotherapy in Pregnancy. 2013b. *J. Clin. Pharmacol.* 53(12): 1268-1276.

Krecic-Shepard M, Barnas C, Slimko J, et al. Gender-specific effects on verapamil pharmacokinetics and pharmacodynamics in humans. *J Clin Pharmacol* 2000;40:219-30.

Kristjansson F. Disposition of alprazolam in human volunteers: differences between genders. *Acta Pharm Nord* 1991;3:249-250.

Laguna-Goya N, de Andres-Trelles F. Sex as a variable in medicines assessment reports for licensing in the European Union. Can gender bias be excluded? *Eur J Clin Pharmacol.* 2014 May;70(5):519-25.

Lancaster GA, Dodd S, Williamson PR. Design and analysis of pilot studies: recommendations for good practice. *Journal of evaluation in clinical practice*. 2004;10(2):307-12.

Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. Jefatura del Estado. «BOE» núm. 178, de 27 de julio de 2006 Referencia: BOE-A-2006-13554.

Lindahl A, Ungell AL, Knutson L, Lennernas H. Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharm Res* 1997;14:497-502.

Liu KA, Mager NA. Women's involvement in clinical trials: historical perspective and future implications. *Pharm Pract (Granada)*. 2016 Jan-Mar;14(1):708.

Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. *Int J Cosmet Sci*. 2013 Oct;35(5):477-83.

Marzo A, Fibbioli M, Marone C, Cerutti B. The degree of predictivity in pilot studies on six subjects in bioequivalence trials. *Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2004;49(3):283-6.

Mathew TWY. Pilot–pivotal trials for average bioequivalence. *Journal of Statistical Planning and Inference*. 2007;138(2008):2106 – 16

McGilveray IJ. Bioequivalence studies of drugs prescribed mainly for women. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. 2011;18(3):e516-22.

Medicines Control Council, Department of Health Republic of South Africa. Registration of Medicines: Biostudies. 2003.

Midha K, Rawson M, Hubbard J. The bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *International Journal of Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2005;43(10).

Miller MA. Gender-based differences in the toxicity of pharmaceuticals—the Food and Drug Administration's perspective. *Int J Toxicol*. 2001 May-Jun;20(3):149-52.

Montague TH, Potvin D, Diliberti CE, Hauck WW, Parr AF, Schuirmann DJ. Additional results for 'Sequential design approaches for bioequivalence studies with crossover designs'. *Pharm Stat*. 2012 Jan-Feb;11(1):8-13.

Moreno Arza, M. (2016). Optimización y mejora en la evaluación y análisis de los estudios de bioequivalencia. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.

Muck W. Clinical pharmacokinetics of cerivastatin. *Clin Pharmacokinet* 2000;39(2):99-116.

National Institute of Health Sciences, Japan. Guideline for Bioequivalence Studies for Generic Products. 22 Dec 1997.

Neville MM, Geppert J, Min Y, Grimble G, Crawford MA, Ghebremeskel K. Dietary fat intake, body composition and blood lipids of university men and women. *Nutr Health* 2012;21(3):173-85.

Norman JL, Fixen DR, Saseen JJ, Saba LM, Linnebur SA. Zolpidem prescribing practices before and after Food and Drug Administration required product labeling changes. *SAGE Open Med*. 2017 May 5;5:2050312117707687.

Ochs HR, Greenblatt DJ, Divoll M, Abernethy DR, Feyerabend H, Dengler HJ. Diazepam kinetics in relation to age and sex. *Pharmacology*. 1981;23(1):24-30.

Parekh A, Fadiran EO, Uhl K, Throckmorton DC. Adverse effects in women: implications for drug development and regulatory policies. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2011 Jul;4(4):453-66.

Parekh A, Sanhai W, Marts S, Uhl K. Advancing women's health via FDA Critical Path Initiative. *Drug Discov Today Technol*. 2007 Winter;4(2):69-73.

Pinn VW. Sex and gender factors in medical studies: implications for health and clinical practice. *JAMA*. 2003 Jan 22-29;289(4):397-400.

Pinnow E, Sharma P, Parekh A, Gevorkian N, Uhl K. Increasing participation of women in early phase clinical trials approved by the FDA. *Womens Health Issues*. 2009 Mar-Apr;19(2):89-93.

Pollow K, Kreienberg R, Di Pietro N. Medroxyprogesterone acetate: steady-state pharmacokinetics bioequivalence of two oral formulations. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1989;115(4):397-9. PubMed PMID: 2527239

Potvin D, DiLiberti CE, Hauck WW, Parr AF, Schuirmann DJ, Smith RA. Sequential design approaches for bioequivalence studies with crossover designs. *Pharm Stat*. 2008 Oct-Dec;7(4):245-62.

Real Decreto 561/1993, de 16 de abril, por el que se establecen los requisitos para la realización de ensayos clínicos con medicamentos. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1993-12483>

Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2004-2316>

Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2015-14082>

Reiffen D, Ward MR. Generic drug industry dynamics. Review of Economics and Statistics. 2005;87(1):37-49.

Ronfeld R, Tremaine L, Wilner K. Pharmacokinetics of sertraline and its N-demethyl metabolite in elderly and young male and female volunteers. Clin Pharmacokinet 1997;32S:22-30.

Schuetz E, Furuya K, Schuetz J. Interindividual variation in expression of P-glycoprotein in normal human liver and secondary hepatic neoplasms. J Pharmacol Exp Ther 1995;275:1011-8.

Schirmann DJ. A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. J Pharmacokinet Biopharm. 1987 Dec;15(6):657-80. PubMed PMID: 3450848.

Schwartz JB. The influence of sex on pharmacokinetics. Clin Pharmacokinet 2003;42(2):107-121.

Stahl EG. Política de medicamentos en Estados Unidos de América. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2009;26(4):537-43.

Tamboli AM, Todkar P, Zope P, Sayyad FJ (2010) An Overview on Bioequivalence: Regulatory Consideration for Generic Drug Products. J Bioequiv Availab 2:086-092.

Tanaka E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. *J Clin Pharm Ther* 1999;24:339-46.

Thabane L, Ma J, Chu R, Cheng J, Ismaila A, Rios LP, Robson R, Thabane M, Giangregorio L, Goldsmith CH. A tutorial on pilot studies: the what, why and how. *BMC Med Res Methodol*. 2010 Jan 6;10:1.

Thurmann PA, Hompesch BC. Influence of gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998;36(11):589-90.

Timmer CJ, Sitsen JM, Delbressine LP. Clinical pharmacokinetics of mirtazapine. *Clin Pharmacokinet* 2000;38(6):461-74.

Torrado JJ, Blanco M, Farré M, Roset P, García-Arieta A. Cocientenale and conditions for the requirement of chiral bioanalytical methods in bioequivalence studies. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010 Jun;66(6):599-604.

Tothfalusi L, Endrenyi L, Arieta AG. Evaluation of bioequivalence for highly variable drugs with scaled average bioequivalence. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48(11):725-43.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Bioavailability and Bioequivalence. Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations. March 2003, revision 1. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/03/briefing/3995B1_07_GFI-BioAvail-BioEquiv.pdf.

US Government Accountability Office (GAO), 2010. Washington, DC, 20548. Drug safety: most drugs withdrawn in recent years had greater health risks for women <http://www.gao/new.items/d01286r.pdf>.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Bioavailability and Bioequivalence. Studies Submitted in NDAs o INDs - General Considerations. March 2014, Draft guidance. <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm389370.pdf>.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for industry. Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. January 2001. <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070244.pdf>.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. "General Considerations for the Clinical Evaluation of Drugs in Infants and Children". (FDA-77-3040). Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1977.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Guideline for the Study and Evaluation of Gender Differences in the Clinical Evaluation of Drugs. Federal Register. 1993 Jul 22;58(139):39406-16.

U.S. United States General Accounting Office. Report to Congressional Requesters. Women's Health. FDA Needs to Ensure More Study of Gender Differences in Prescription Drug Testing. October 1992. <https://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics/WomensHealthResearch/UCM131202.pdf>

U.S. Food and Drug Administration. Zolpidem Containing Products: Drug Safety Communications FDA Requires Lower Doses. Washington, Dc: United States Food and Drug Administration, United States Department of Health and Human Services, 2013.

U.S. Food and Drug Administration. Drugs. - U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Bioequivalence Recommendations for Specific Products. June 2010, <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm072872.pdf>.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). FDA, Draft Guidance on Tadalafil. Revised Octubre 2017. <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm090562.pdf>.

Van Horn L, Ballew C, Liu K, et al. Diet, body size, and plasma lipids-lipoproteins in young adults: differences by race and sex. The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Am J Epidemiol* 1991;133:9-23.

Vargesson N. Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms. *Birth Defects Research*. 2015;105(2):140-156.

Vázquez, M., Fagiolino, P., Ibarra, M., Magallanes, L. Safety assessment of efavirenz after a single-dose bioequivalence study: A trend to correlate central nervous system effect and plasma concentration. 2015 *Int J Pharm*. 5(1):46-52.

Verbeeck R, Cardinal JA, Wallace S. Effect of age and sex on the plasma binding of acidic and basic drugs. *Eur J Clin Pharmacol* 1984;27:91-7.

Walle T, Walle K, Mathur RS, Palesch YY, Conradi EC. Propranolol metabolism in normal subjects: association with sex steroid hormones. *Clin Pharmacol Ther* 1994;56:127-32.

Wang Y, Zhou S. Pilot trial for the assessment of relative bioavailability in generic drug product development: statistical power. *Journal of biopharmaceutical statistics*. 1999;9(1):179-87.

Wizemann T, Pardue M. Exploring the biological contributions to human health: does sex matter? Washington DC: National Academies Press; 2001.

Woosley RL. From bench to bedside: role of gender-based therapeutics in the clinical care of women. *J Womens Health*. 1998 Feb;7(1):21-3.

Xu J, Audet C, DiLiberti CE, Hauck WW, Montague TH, Parr AF, Potvin D, Schuirmann DJ. Optimal adaptive sequential designs for crossover bioequivalence studies. *Pharm Stat*. 2016 Jan-Feb;15(1):15-27.

Yonkers KA, Kando JC, Cole JO, Blumenthal S. Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychotropic medication. *Am J Psychiatry* 1992;149: 587-95.

Zhang S, Kan Q, Wen JG, Zhao J, Sheng Y, Li Y, et al. Pilot and pivotal study to evaluate the bioequivalence of two paroxetine 40 mg tablet formulations in healthy Chinese subjects. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2012;50(7):514-23.

Zopf Y, Rabe C, Neubert A, Gassmann KG, Rascher W, Hahn EG, Brune K, Dormann H. Women encounter ADRs more often than do men. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008 Oct;64(10):999-1004.

ANEXO

Análisis gráfico de los estudios con diferencias mayores del 20%
entre hombres y mujeres o donde la interacción sexo por
formulación es significativa

Este anexo muestra la distribución de las diferencias individuales test-referencia para C_{\max} o AUC_t en escala logarítmica. Permite evaluar visualmente la existencia de diferentes nubes de puntos para hombres y mujeres o la existencia de valores extremos que puedan afectar a los valores medios de cada grupo de sexo en estudios en los que la interacción sexo por formulación se haya detectado estadísticamente o haya sido sugerida por diferencias mayores del 20%. La existencia de valores extremos ha sido evaluada mediante un diagrama de cajas.

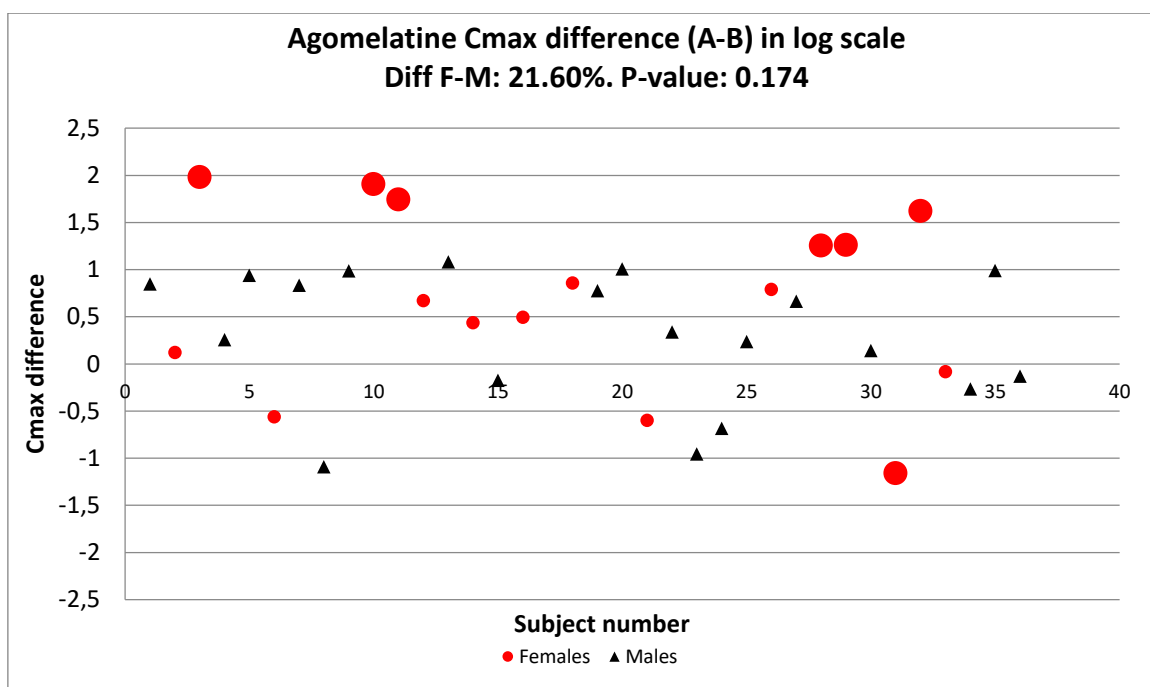


Figura 25. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Agomelatina”.

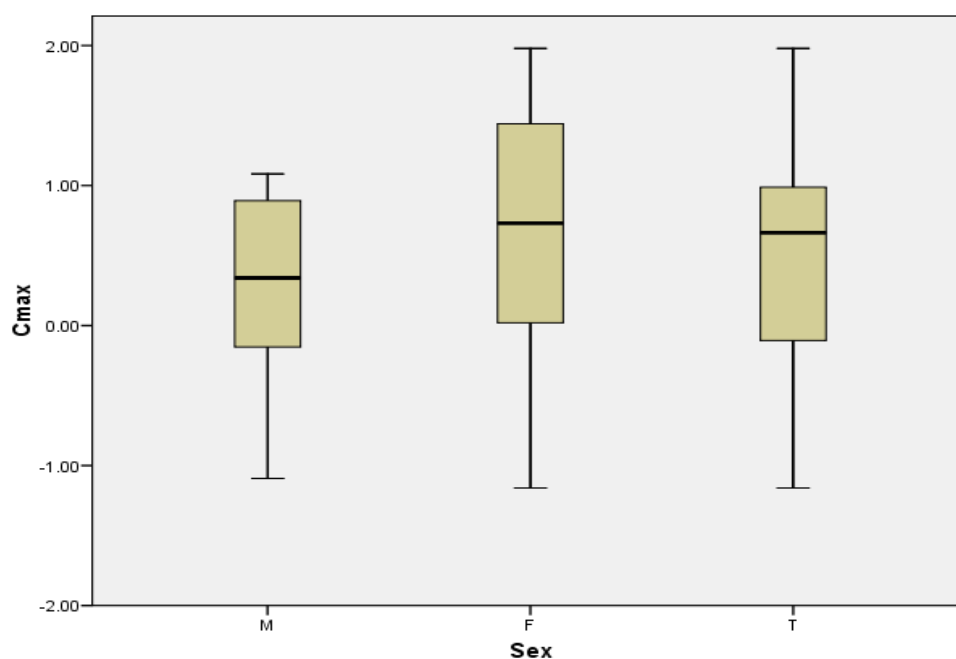


Figura 26. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Agomelatina”.

La figura 25 muestra que hay una gran proporción de mujeres con diferencias T-R positivas (sujetos #3, #10, #11, #28, #29 y #32), aunque también la diferencia más baja (negativa) para T-R corresponde a una mujer (sujeto #31). Por tanto, las diferencias máximas y mínimas de T-R son mujeres (resaltadas como puntos con un tamaño mayor). En consecuencia, la nube de puntos de los hombres se encuentra entre la nube de puntos de mujeres. No podemos concluir que las mujeres y los hombres presenten un comportamiento diferente.

El diagrama de cajas de la figura 26 muestra que las cajas se superponen y no hay ningún valor extremo, por tanto ninguno de estos sujetos puede considerarse como un sujeto extremo o atípico.

En nuestra opinión, los resultados de este estudio no sugieren la existencia de un comportamiento diferente en hombres y mujeres. La gran diferencia en las estimaciones puntuales de hombres y mujeres (21,60%) parece ser consecuencia del gran número de mujeres con diferencias T-R positivas. Esto podría ser causado al azar en un pequeño porcentaje de estudios.

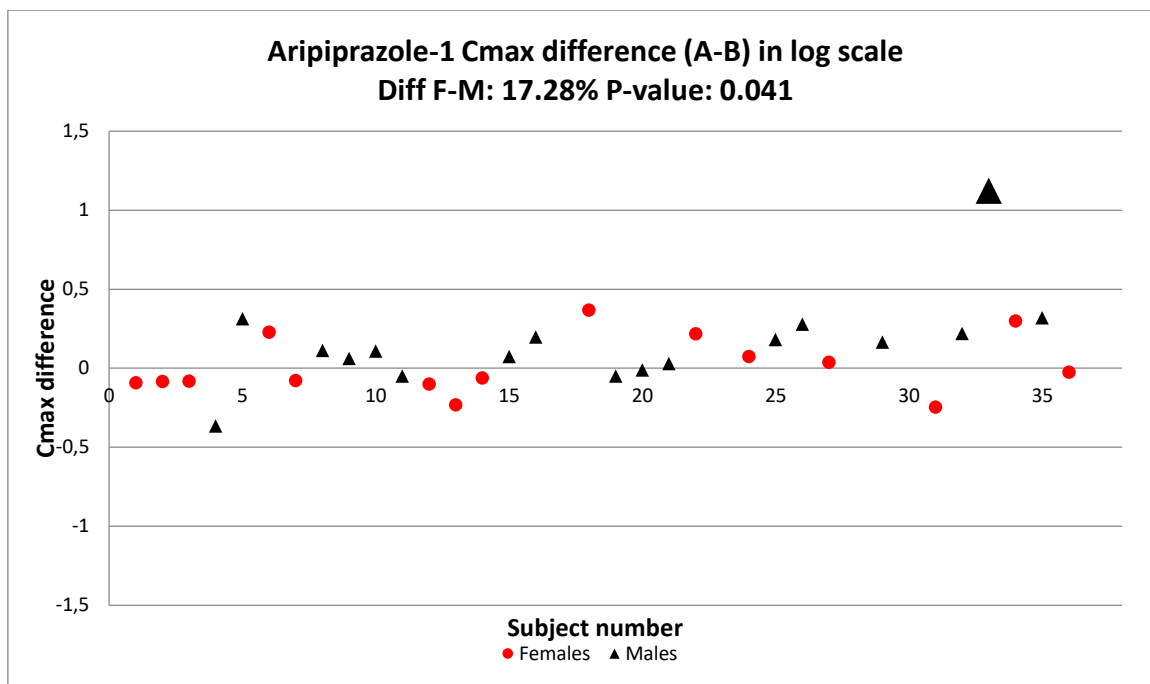


Figura 27. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Aripiprazol-1”.

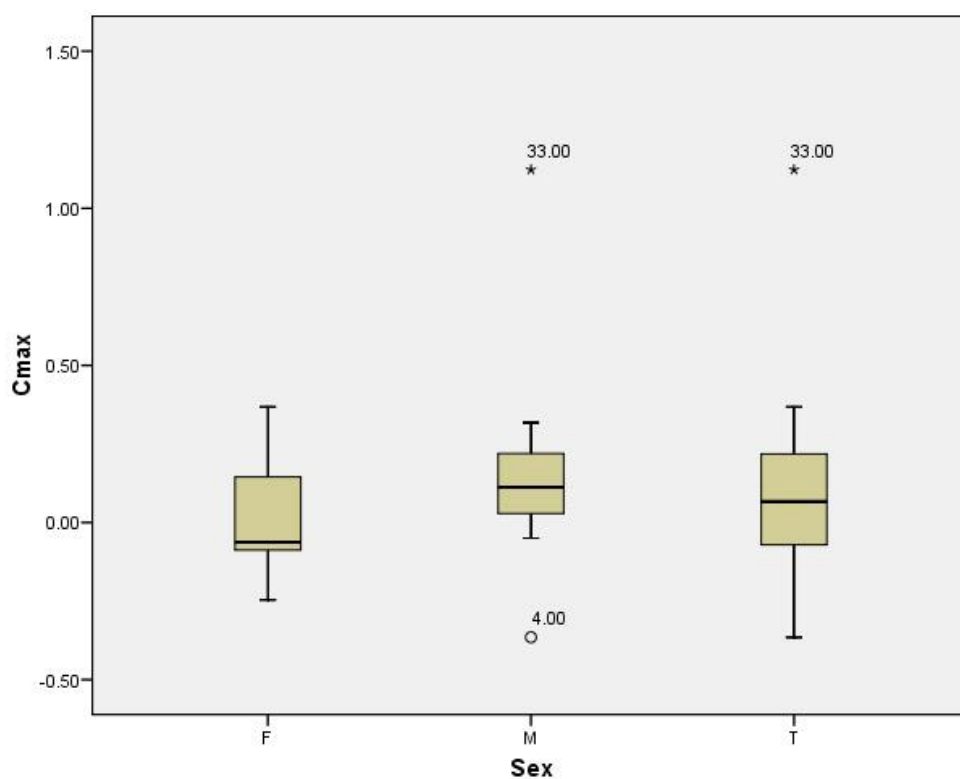


Figura 28. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Aripiprazol-1”.

La figura 27 muestra que la distribución de las diferencias individuales T-R en escala logarítmica entre hombres y mujeres se solapa, excepto en el sujeto # 33 (hombre). Este sujeto se comporta como un valor extremo (1,12 para la diferencia T-R en escala logarítmica) y parece sesgar la estimación media de los hombres. En consecuencia, la media del grupo masculino se desplaza hacia arriba debido a este valor extremo, lo que crea el valor de $p = 0,041$ para la interacción sexo por formulación. Esta diferencia se vuelve más pequeña (100,35% vs. 111,96%, es decir, 10,33%) y no estadísticamente significativa si se elimina este valor extremo ($p = 0,103$).

De acuerdo con el diagrama de cajas de toda la población (figura 28) el sujeto #33 es un valor extremo. Cuando se evalúa sólo el grupo de hombres, el sujeto #4 (hombre) también es un valor extremo, pero la diferencia T-R de este sujeto hombre es similar a las encontradas en el grupo de las mujeres. Por tanto, toda la población de mujeres se incluye entre los hombres.

En nuestra opinión, los resultados de este estudio no sugieren la existencia de un comportamiento diferente en hombres y mujeres. Las diferencias en las estimaciones puntuales de hombres y mujeres (17,28%) parecen ser la consecuencia de la presencia de un valor extremo con diferencias T-R positivas. Esto podría ser causado al azar en un pequeño porcentaje de estudios. Al excluir a ese sujeto extremo, la diferencia sería sólo del 10% entre mujeres y hombres y la interacción sexo por formulación no sería significativa.

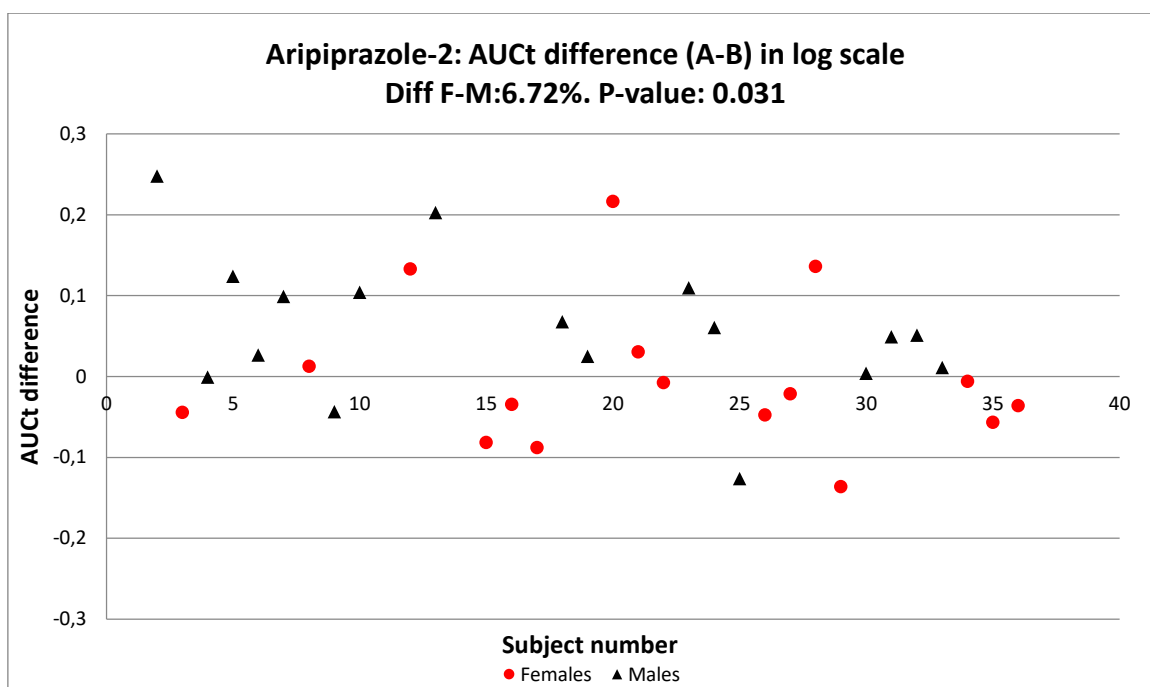


Figura 29. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) en el estudio “Aripiprazol-2”.

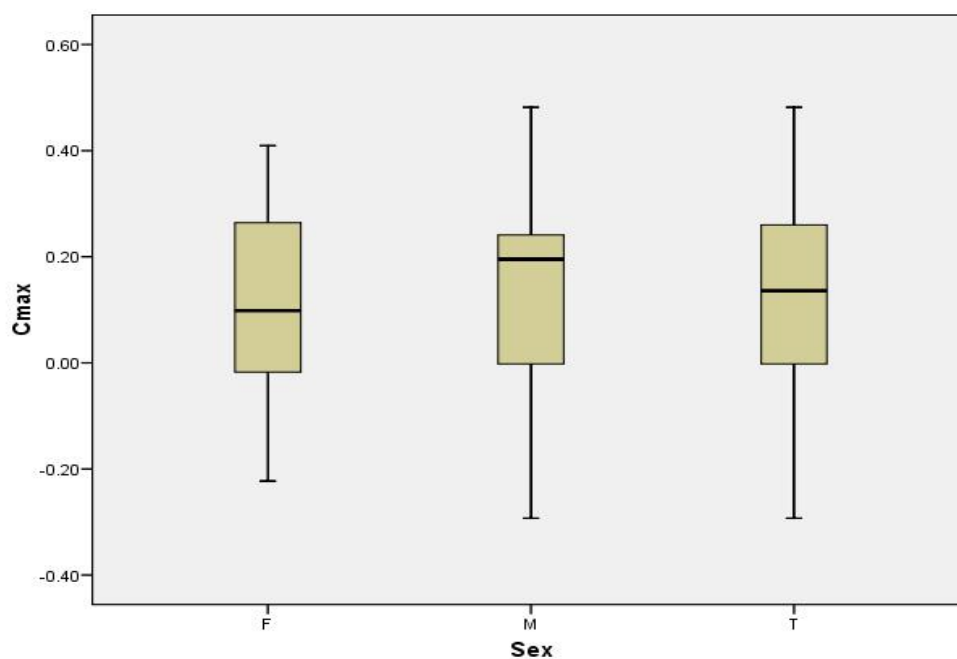


Figura 30. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Aripiprazol-2”.

La figura 29 muestra la distribución de las diferencias individuales T-R en escala logarítmica de hombres y mujeres, ambas se encuentran superpuestas y sin ningún valor extremo destacado.

El diagrama de cajas (figura 30) confirma la ausencia de valores extremos y que la distribución se encuentra superpuesta.

La diferencia de 6,72% entre las estimaciones puntuales entre hombres y mujeres es considerada una interacción sexo por formulación estadísticamente significativa debido a la variabilidad extremadamente baja en el conjunto de datos (CV: 6,57%). Basándonos en la inspección visual de la nube de puntos, se confirma que los hombres y las mujeres no presentan nubes de puntos diferenciadas.

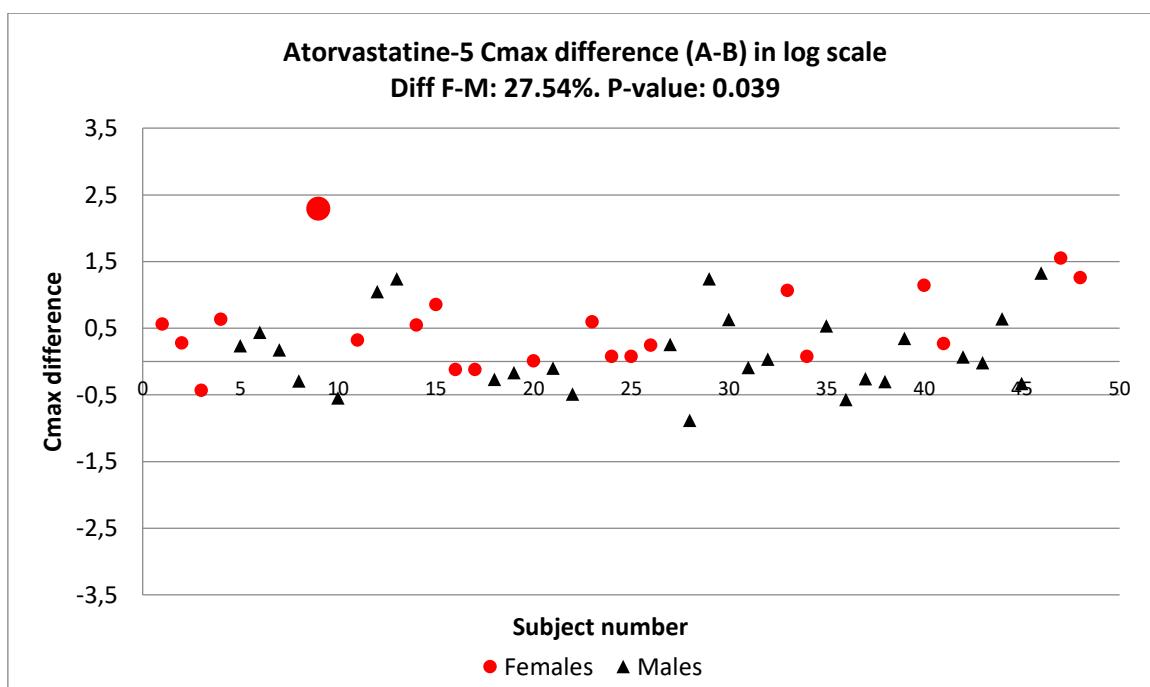


Figura 31. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Atorvastatina-5”.

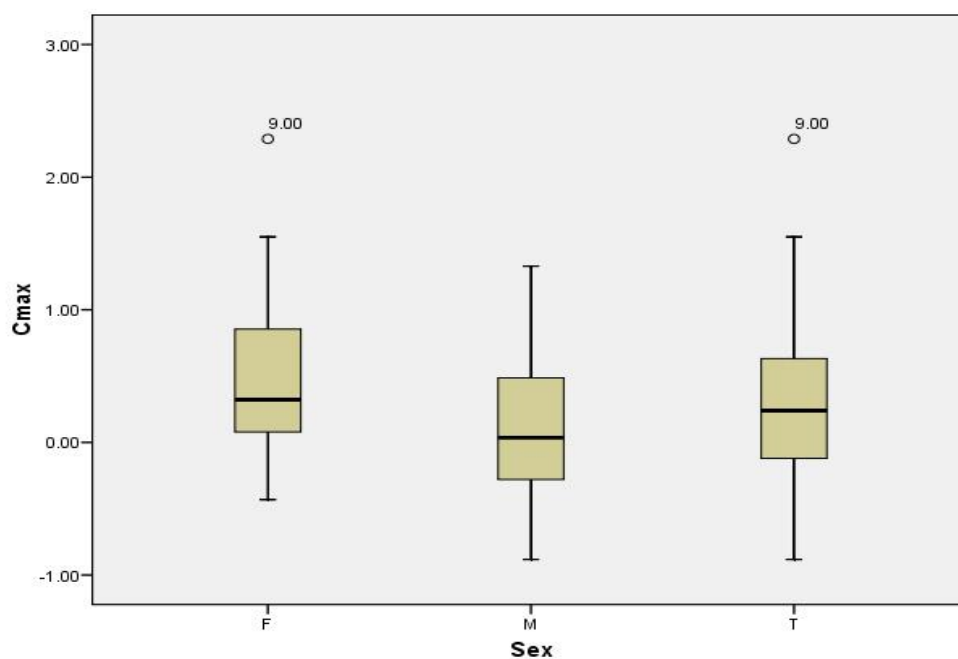


Figura 32. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Atorvastatina-5”

La figura 31 muestra que la distribución de las diferencias individuales entre hombres y mujeres se encuentra solapada, aunque el sujeto #9 (mujer) se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R positiva para C_{\max} (2,29 para la diferencia T-R en escala logarítmica). En consecuencia, las medias del grupo de mujeres se desplazan hacia arriba, lo que crea el valor de $p = 0,039$ en la interacción sexo por formulación.

La figura 32 confirma que el sujeto 9 es un valor extremo en el grupo de mujeres y en el grupo que incluye toda la población. Las diferencias T-R se vuelven más pequeñas (156,09% vs. 115,95%, es decir, 22,18%), aunque siguen siendo mayores del 20%, y no estadísticamente significativas si se elimina este valor extremo ($p = 0,08$). Esto indica que las mujeres tienden a tener valores más altos y los hombres tienden a tener valores más bajos, aunque el rango de valores es bastante similar. Esta distribución desigual de hombres y mujeres parece ser debida al azar, lo que podría ser esperable en un pequeño número de estudios.

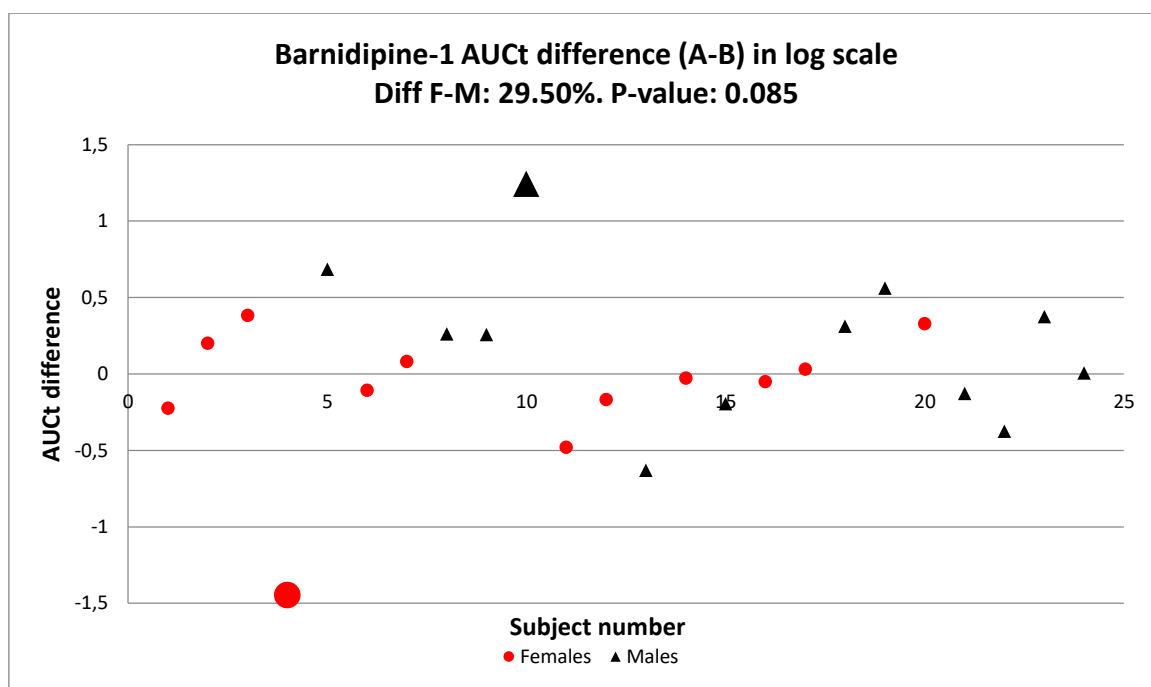


Figura 33. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Barnidipino-1”.

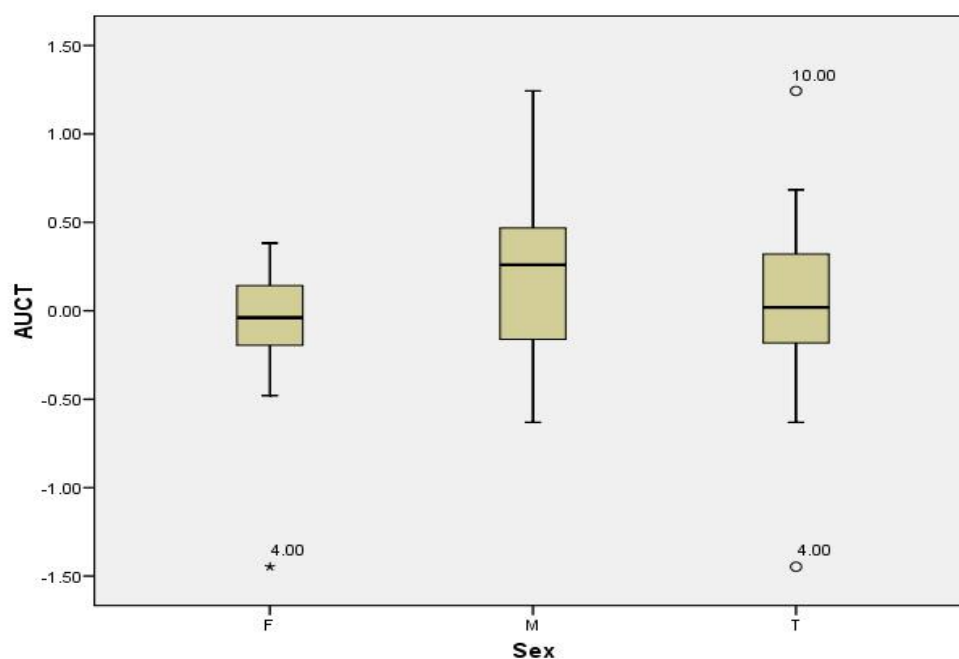


Figura 34. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Barnidipino-1”.

La figura 33 muestra que la distribución de las diferencias individuales entre hombres y mujeres se encuentra solapada, pero el sujeto #4 (mujer), se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R negativa para AUC_t (-1,45 para la diferencia T-R en escala logarítmica) y el sujeto #10 (hombre) se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R positiva para AUC_t (1,24 para la diferencia T-R en la escala logarítmica). En consecuencia, las medias de los grupos de sexo se desplazan en direcciones opuestas, lo que sugiere la existencia de interacción sexo por formulación (dif F-M: 29,50%), aunque no alcanza significación estadística debido a la gran variabilidad en el conjunto de datos.

La figura 34 confirma que las cajas se encuentran solapadas y los sujetos #4 y #10 son considerados valores extremos teniendo en cuenta el total de la población. Esta diferencia se reduce (98,64% vs. 112,57%, es decir, 12,53%) y continúa siendo no estadísticamente significativa ($p = 0,32$) si se eliminan estos valores extremos.

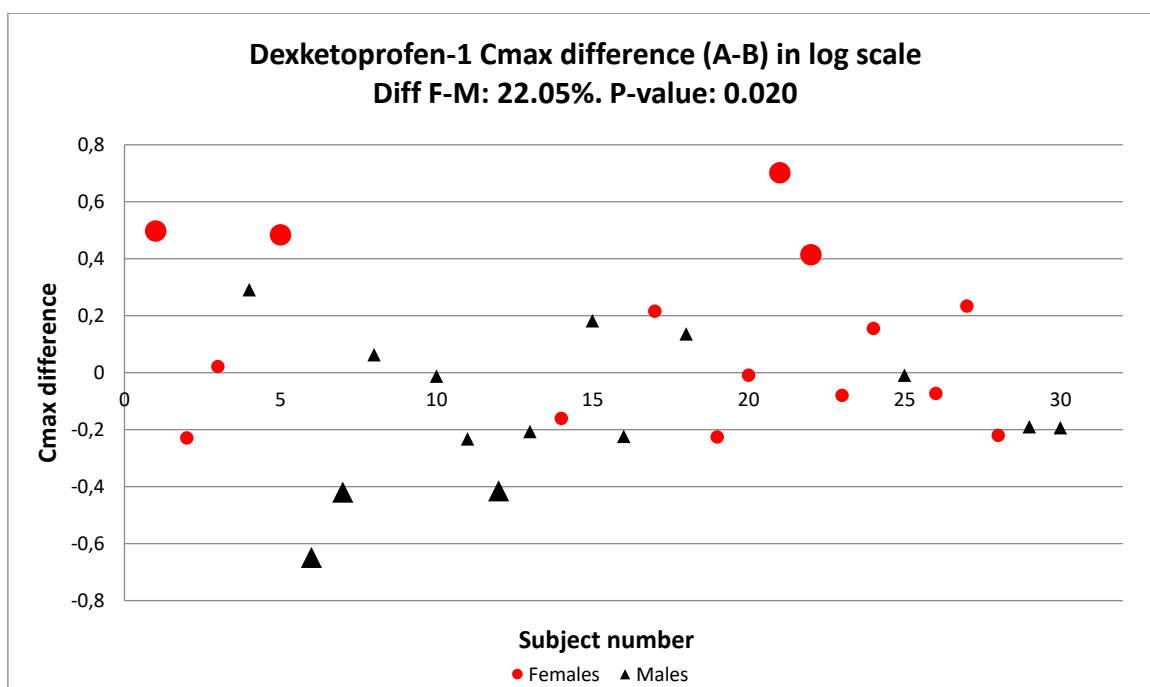


Figura 35. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Dexketoprofeno-1”.

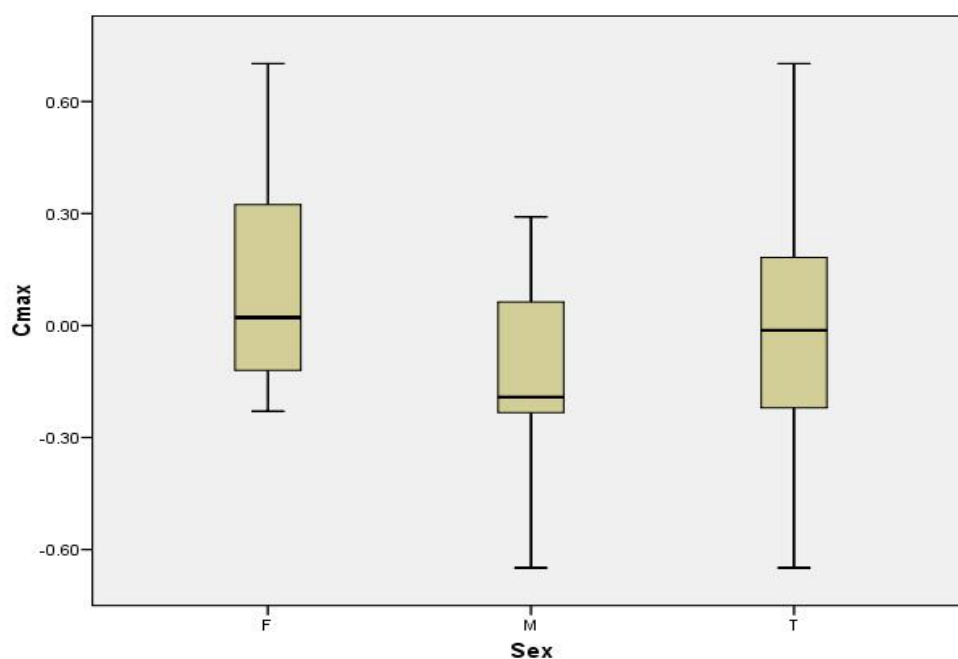


Figura 36. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Dexketoprofeno-1”.

La figura 34 muestra que la distribución de las diferencias individuales T-R en escala logarítmica entre hombres y mujeres se encuentra solapada, excepto en las mujeres #1, #5, #21 y #22, las cuales mostraron diferencias muy positivas y los hombres #6, #7 y #12, que mostraron diferencias muy negativas. Las media de los grupos de sexo se desplazan en diferentes direcciones debido a esta distribución desigual en estos 7 sujetos, que son responsables de haber sugerido la existencia de interacción sexo por formulación (Dif F-M: 22,05%) con un valor de p de 0,020, que es detectado como estadísticamente significativo debido a que la variabilidad no es muy alta ($CV=20,54\%$). Esta diferencia observada desaparecería (100,19% vs. 96,70%, es decir, 3,49%) y sería no estadísticamente significativa si estos 7 sujetos con un comportamiento diferente se eliminasen ($p = 0,821$), lo que indica que el resto de los sujetos se encuentran muy superpuestos.

El diagrama de cajas de la figura 36 no detecta ningún valor extremo. Las cajas se encuentran superpuestas y ligeramente desplazadas. Esto indica que las mujeres tienden a tener valores más altos y los hombres tienden a tener valores más bajos. Esto podría ocurrir al azar en un pequeño porcentaje de estudios donde las diferencias más altas T-R ocurren en sujetos del mismo sexo y las diferencias más bajas T-R ocurren en sujetos del sexo opuesto.

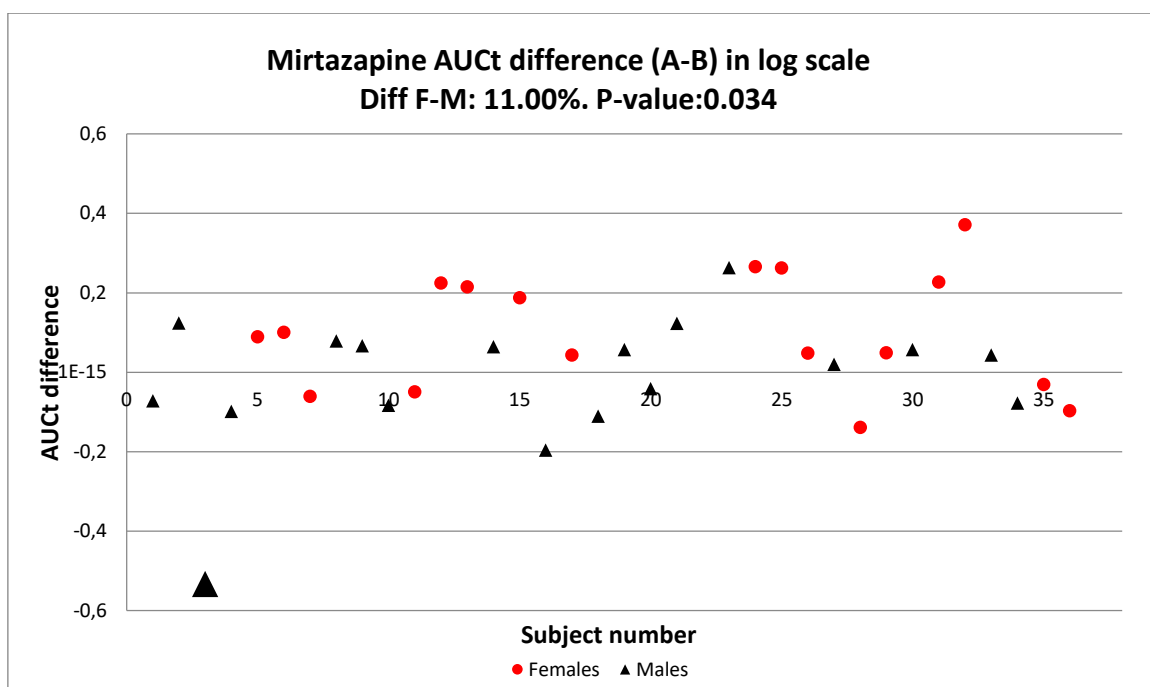


Figura 37. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Mirtazapina”.

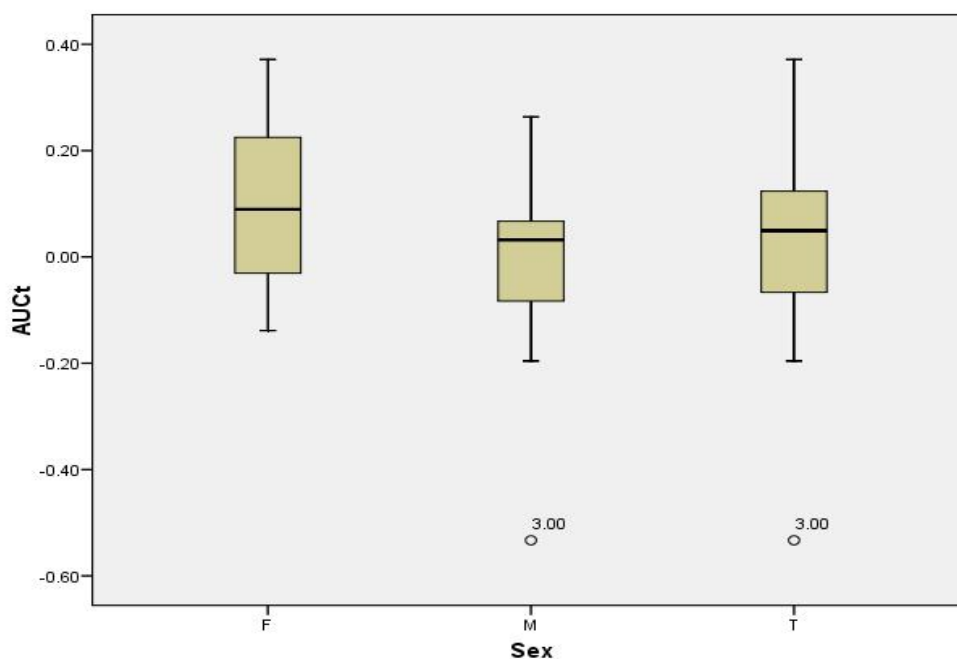


Figura 38. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Mirtazapina”.

La figura 37 muestra que el sujeto #3 (hombre) se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R negativa para AUC_t en escala logarítmica. Los otros treinta y cuatro sujetos presentan diferencias T-R superpuestas, aunque las mujeres parecen prevalecer en la parte superior del gráfico. En consecuencia, la media del grupo masculino se desplaza hacia abajo, lo que crea la interacción estadísticamente significativa con valor $p = 0,034$, debido a la baja variabilidad en el conjunto de datos.

La figura 38 confirma que el sujeto #3 es un valor extremo y que los hombres prevalecen en la parte inferior del gráfico, mientras que las mujeres tienen una distribución más simétrica. Es importante destacar que las medianas son muy similares.

La diferencia en las medias de ambos grupos de sexo es sólo del 11%, pero la interacción sexo por formulación es estadísticamente significativa ($p = 0,034$) debido a la baja variabilidad en el conjunto de datos. Si este sujeto extremo se elimina del conjunto de datos, la diferencia se reduce (110,22% frente a 101,23%, es decir, 8,06%) y la interacción sexo por formulación no sería estadísticamente significativa ($p = 0,056$). Si realmente existiese una interacción sexo por formulación, no podría considerarse clínicamente relevante basándonos en una diferencia tan pequeña (11% o 8%) entre hombres y mujeres.

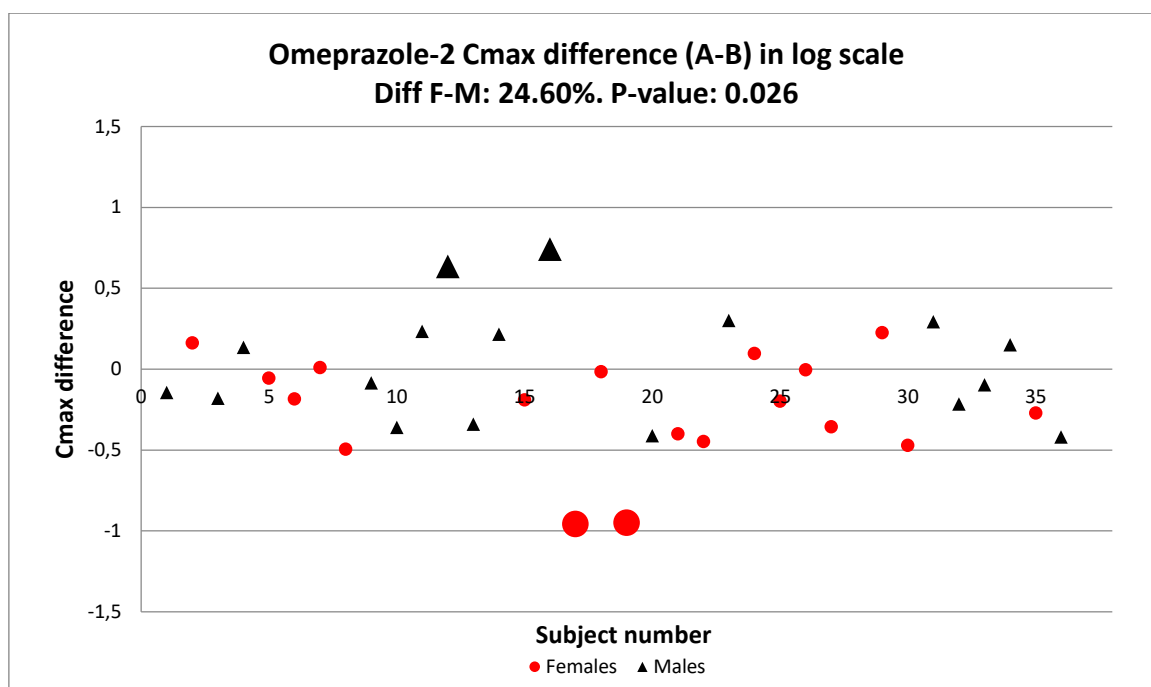


Figura 39. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Omeprazole-2”.

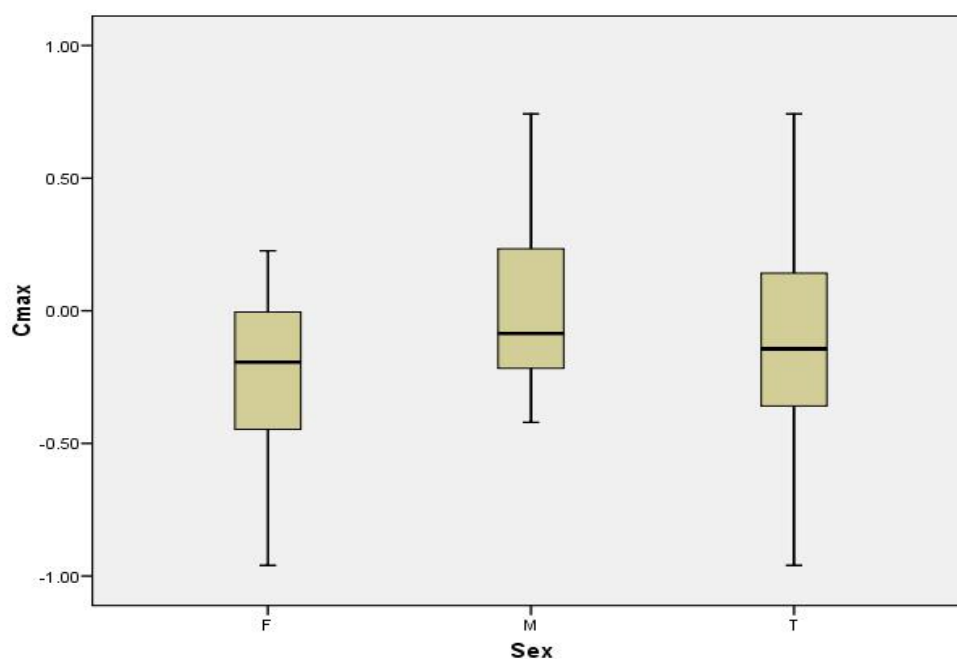


Figura 40. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Omeprazole-2”.

La figura 39 muestra que los sujetos #17 y #19 (mujeres) se comportan como valores extremos con una diferencia T-R negativa para C_{\max} en escala logarítmica y los sujetos #12 y #16 (hombres) se comportan como valores extremos con una diferencia T-R positiva. La coincidencia de que las dos diferencias más positivas y las dos diferencias más negativas se observen en sujetos con diferente sexo es en nuestra opinión debida al azar porque los otros treinta y un valores T-R se encuentran superpuestos. En consecuencia, las medias de los grupos de sexo se desplazan en direcciones diferentes debido a la presencia de valores extremos, lo que sugiere existencia de interacción sexo por formulación (dif F-M: 24,60%). Esta diferencia casi desaparecería (85,76% frente a 93,75%, es decir, 7,99%) y se volvería estadísticamente no significativa si se eliminasen estos cuatro valores extremos ($p = 0,320$).

La figura 40 no detecta estos cuatro sujetos como valores extremos debido a la gran variabilidad en el conjunto de datos. Es importante destacar que los bigotes del diagrama de cajas del grupo de mujeres y hombres por separado no son simétricos debido a los cuatro sujetos descritos anteriormente. Sin embargo, para toda la población en conjunto, los bigotes si son simétricos.

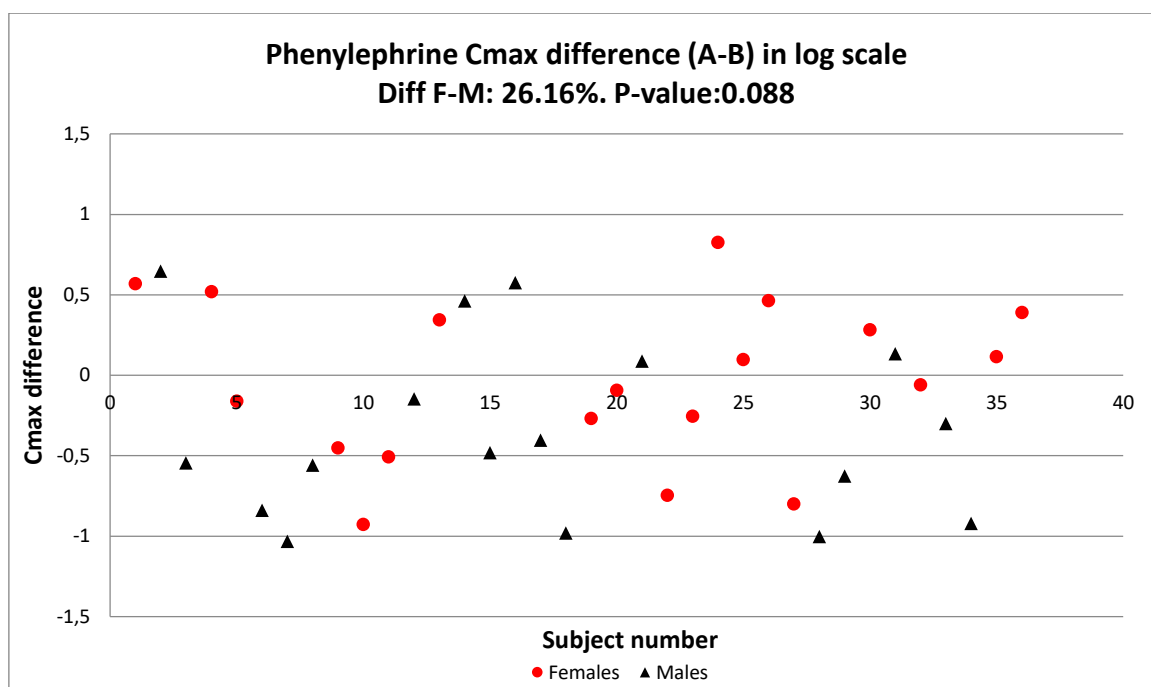


Figura 41. Distribución de las diferencias individuales de C_{max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Fenilefrina”.

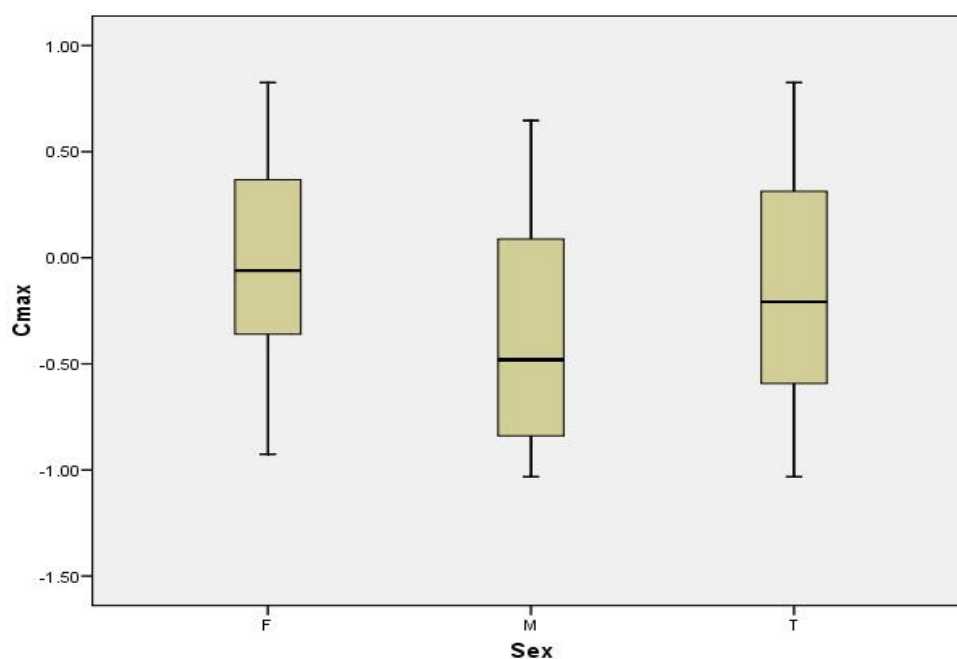


Figura 42. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{max} en el estudio “Fenilefrina”.

La figura 41 muestra que en la distribución de las diferencias individuales T-R entre hombres y mujeres para C_{\max} en escala logarítmica no hay ningún valor extremo. Esto queda confirmado en el diagrama de cajas de la figura 42. El rango de valores de los hombres y mujeres es similar atendiendo a la longitud de los bigotes del diagrama de cajas y las nubes parecen superponerse. Sin embargo, los valores femeninos parecen prevalecer en la parte superior del gráfico y los valores masculinos parecen prevalecer en la parte inferior. En nuestra opinión, esto es aleatorio, ya que podría ocurrir al azar en un porcentaje determinado de estudios.

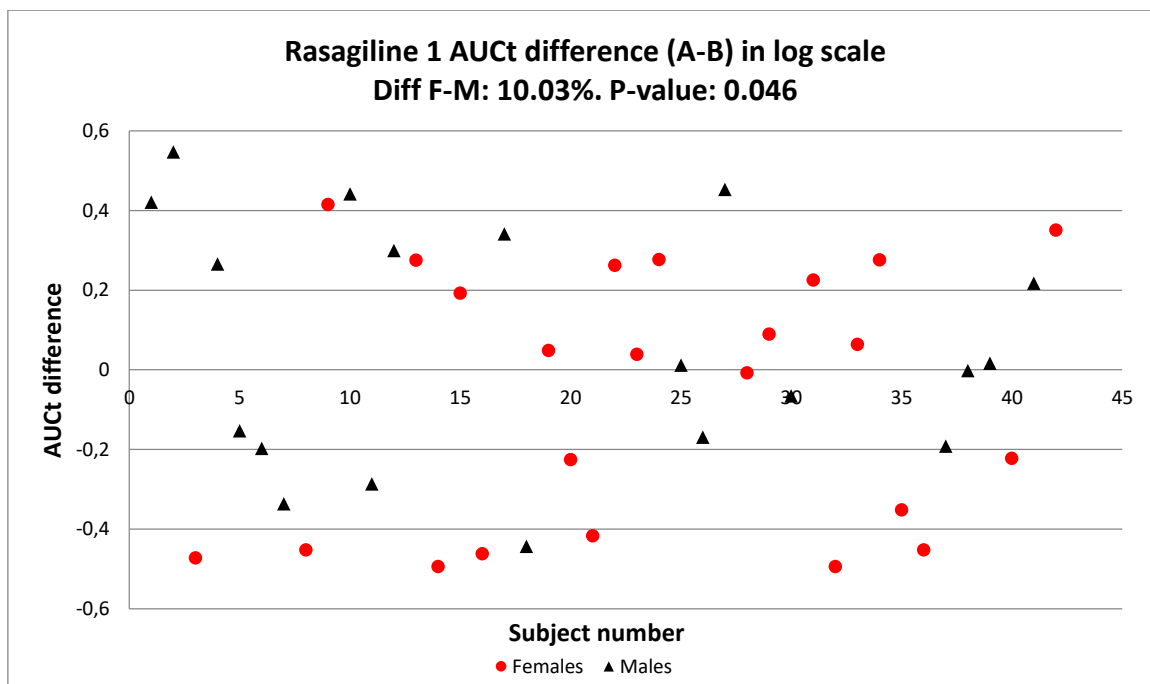


Figura 43. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Rasagilina-1”.

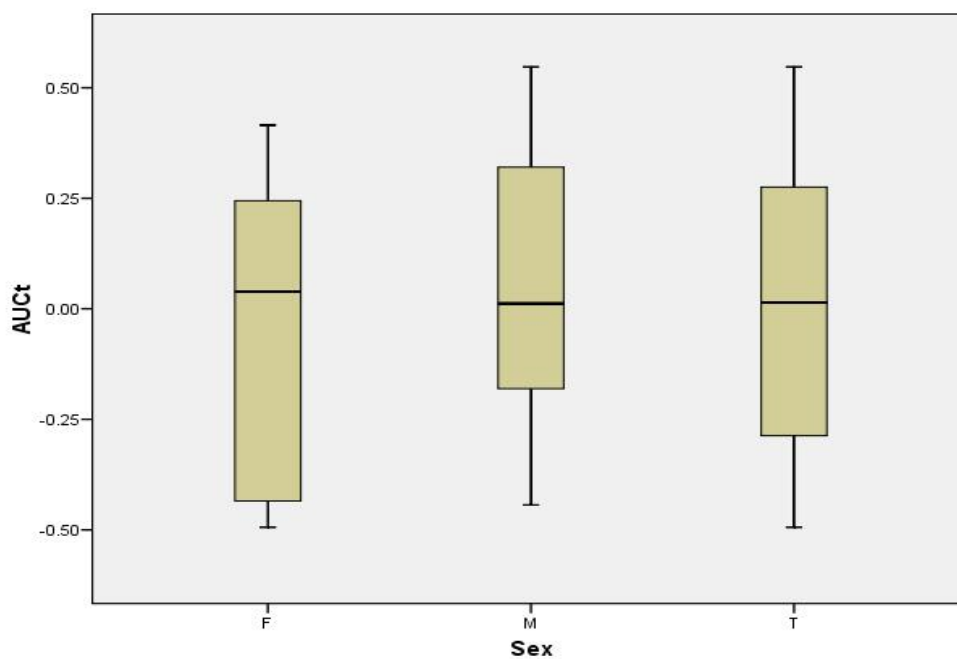


Figura 44. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Rasagilina-1”.

La figura 43 muestra la distribución de las diferencias individuales T-R de hombres y mujeres para AUC_t en la escala logarítmica. Aunque aparentemente se encuentran superpuestas, las mujeres parecen prevalecer en la parte inferior del gráfico. No hay ningún valor extremo, de acuerdo al diagrama de cajas de la figura 44, que también muestra que las medianas son muy similares entre ambos grupos de sexo. La diferencia entre hombres y mujeres es sólo del 10% y esa pequeña diferencia es detectada como interacción sexo por formulación simplemente debido a la baja variabilidad en el conjunto de datos (11,84%). Si realmente existiese tal interacción, no se podría considerar clínicamente relevante.

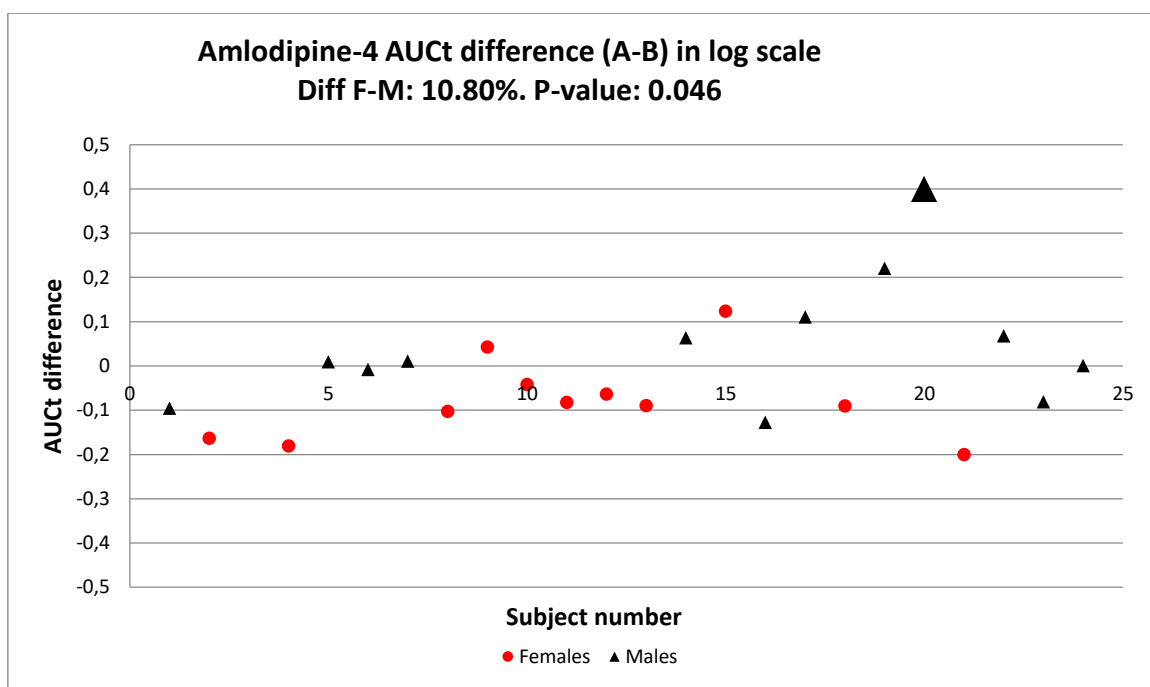


Figura 45. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Amlodipino-4”.

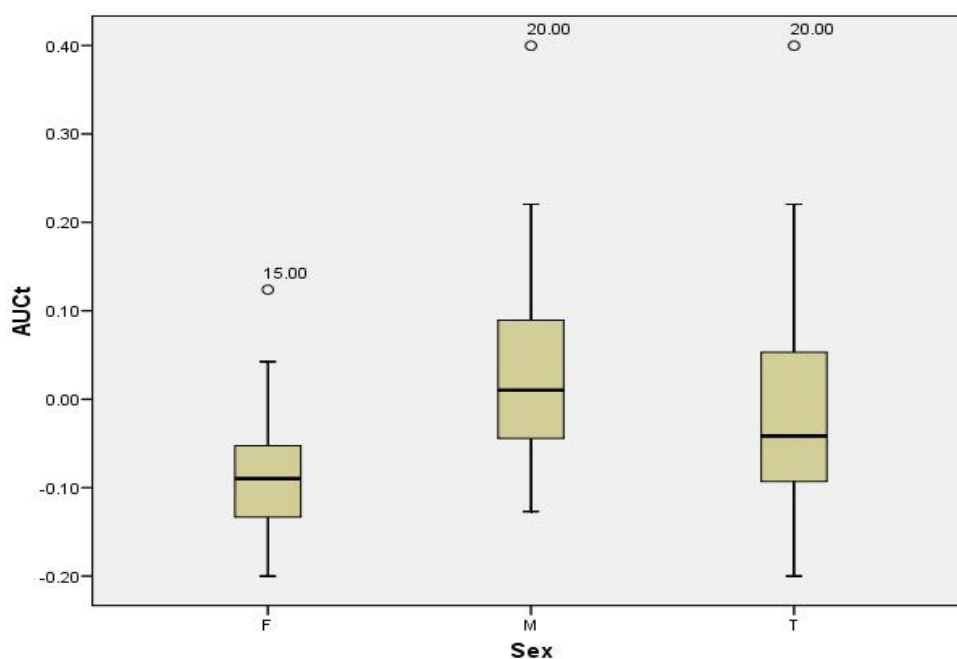


Figura 46. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Amlodipino-4”.

La figura 45 muestra que la distribución de las diferencias individuales entre hombres y mujeres se encuentra superpuesta, pero el sujeto #20 (hombre) se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R positiva para AUC_t (0,40 para la diferencia T-R en escala logarítmica). Esto se confirma en el diagrama de cajas de la figura 46. En consecuencia, las medias del grupo masculino se desplazan hacia arriba, lo que crea una interacción estadísticamente significativa ($p = 0,046$) debido a la baja variabilidad del conjunto de datos (CV: 9,55%). La diferencia se reduce (93,73% vs. 100,10%, es decir, 6,37%) y no sería estadísticamente significativa si se eliminase este valor extremo ($p = 0,099$). En cualquier caso, una diferencia de 10,8% o 6,3% entre hombres y mujeres no sería considerada clínicamente relevante.

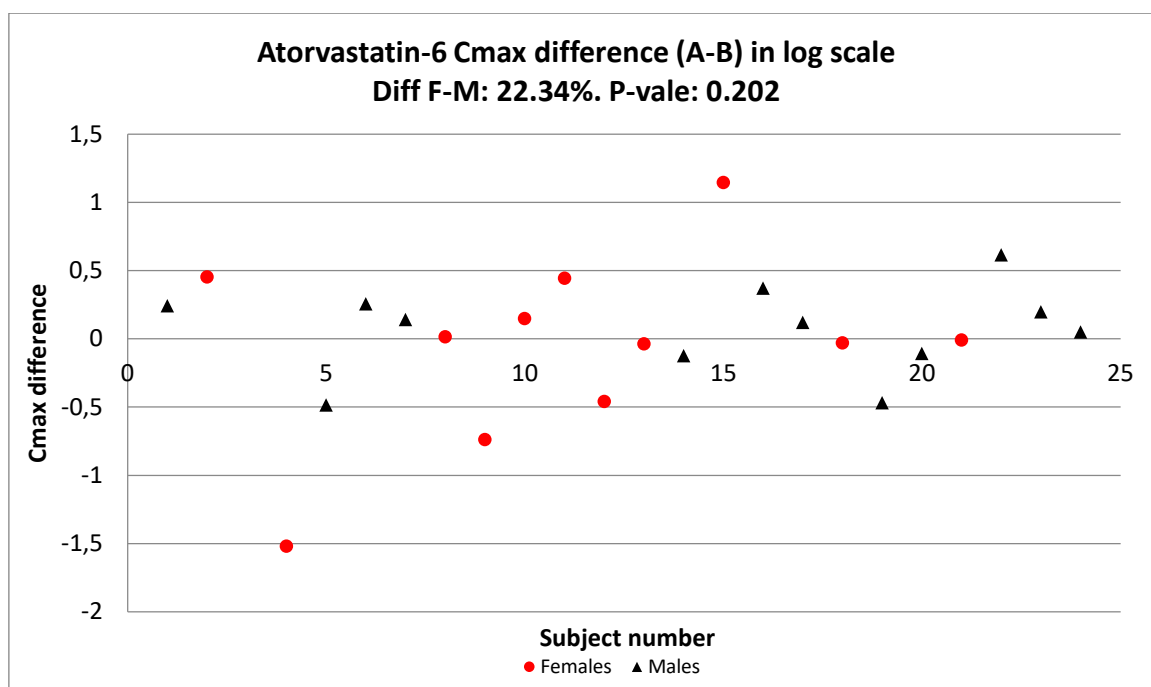


Figura 47. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Atorvastatina-6”.

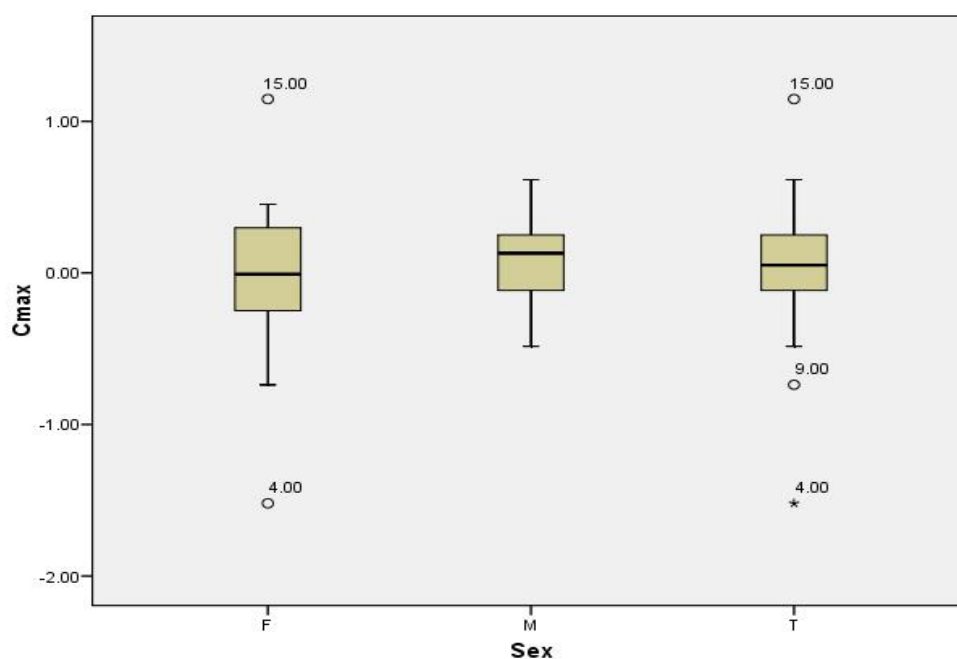


Figura 48. Diagrama de cajas de hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Atorvastatina-6”.

La figura 47 muestra la distribución de las diferencias individuales T-R de hombres y mujeres para C_{\max} en escala logarítmica. El conjunto total de los valores de los hombres se encuentran dentro del rango de valores de las mujeres. Ambos muestran una gran variabilidad (28,56%) y en efecto, tres de ellos son identificados como valores extremos en el diagrama de cajas de la figura 48. Este diagrama muestra que todas las cajas se encuentran superpuestas, por tanto, aunque la media de las diferencias entre hombres y mujeres sea mayor del 20%, el comportamiento parece similar. Por lo que las medias de cada sexo podrían no ser una estimación fiable de la media poblacional debido al pequeño tamaño de la muestra y a la gran variabilidad del conjunto de datos (por ejemplo, 37,30% en las 11 mujeres).

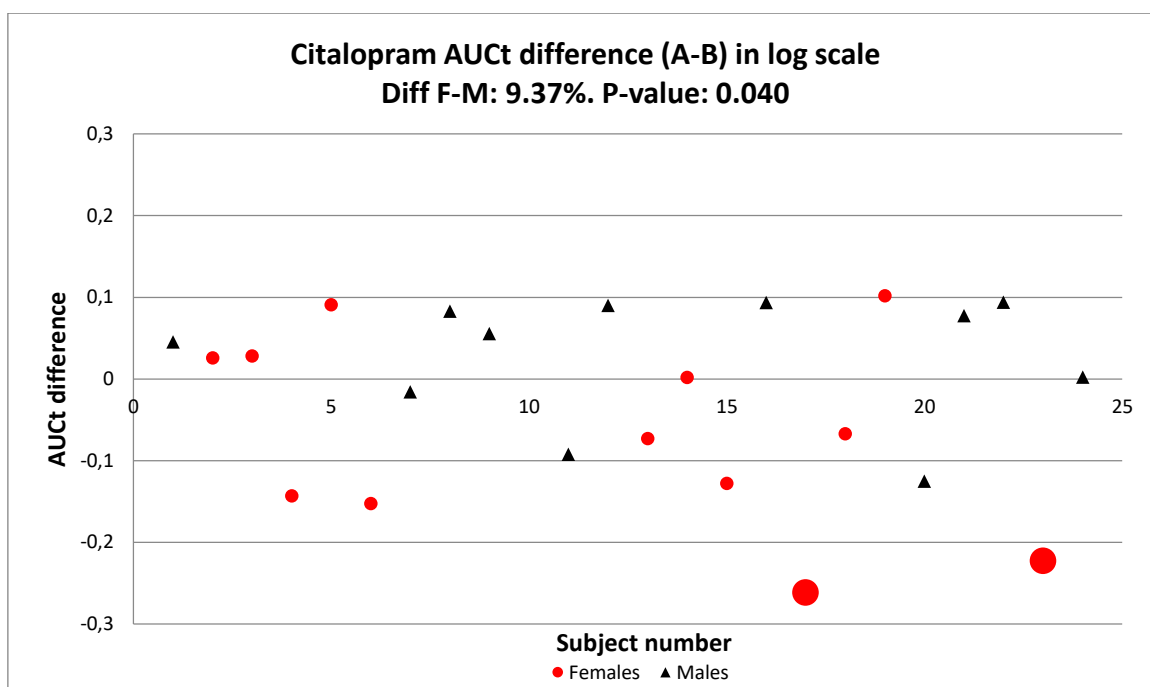


Figura 49. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Citalopram”.

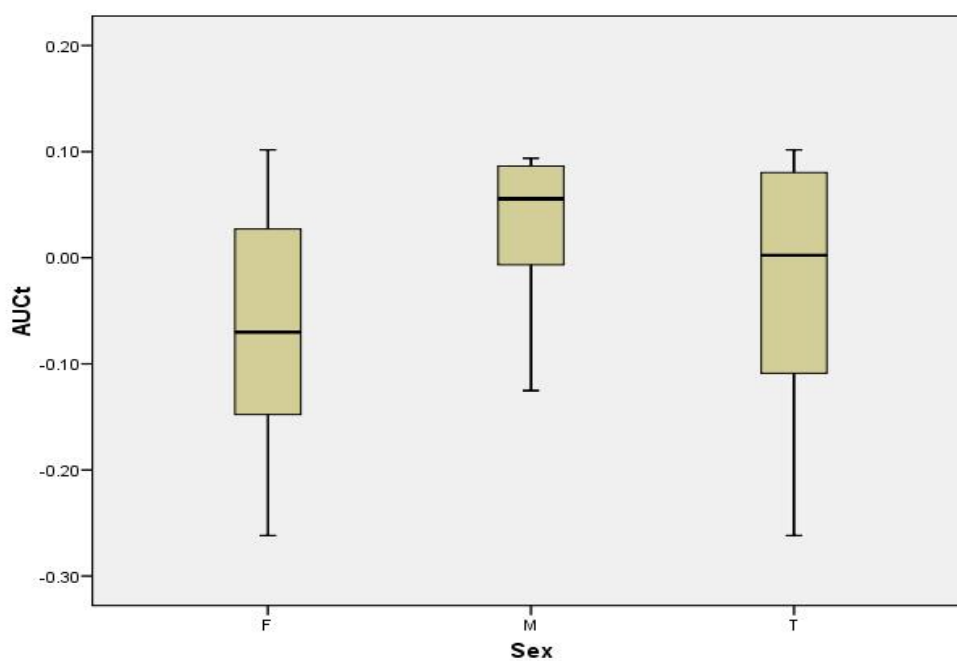


Figura 50. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Citalopram”.

La figura 49 muestra que la nube de puntos de hombres y mujeres está solapada, excepto en los sujetos #17 y #23 (mujeres), que se comportan de manera diferente, aunque no son detectados como valores extremos de acuerdo al diagrama de cajas de la figura 50.

Estos dos valores afectan a la simetría del diagrama de cajas de las mujeres. Además, el conjunto de datos presenta baja variabilidad (7,97%) y es la razón por la que se detecta interacción sexo por formulación estadísticamente significativa a pesar de que las diferencias entre los sexos son sólo del 9,37% y, por tanto, no puede considerarse como clínicamente relevante.

La diferencia se vuelve más pequeña (98,12% frente a 103,01%, es decir, 4,80%) y no estadísticamente significativa si se eliminan estos dos valores ($p = 0,134$).

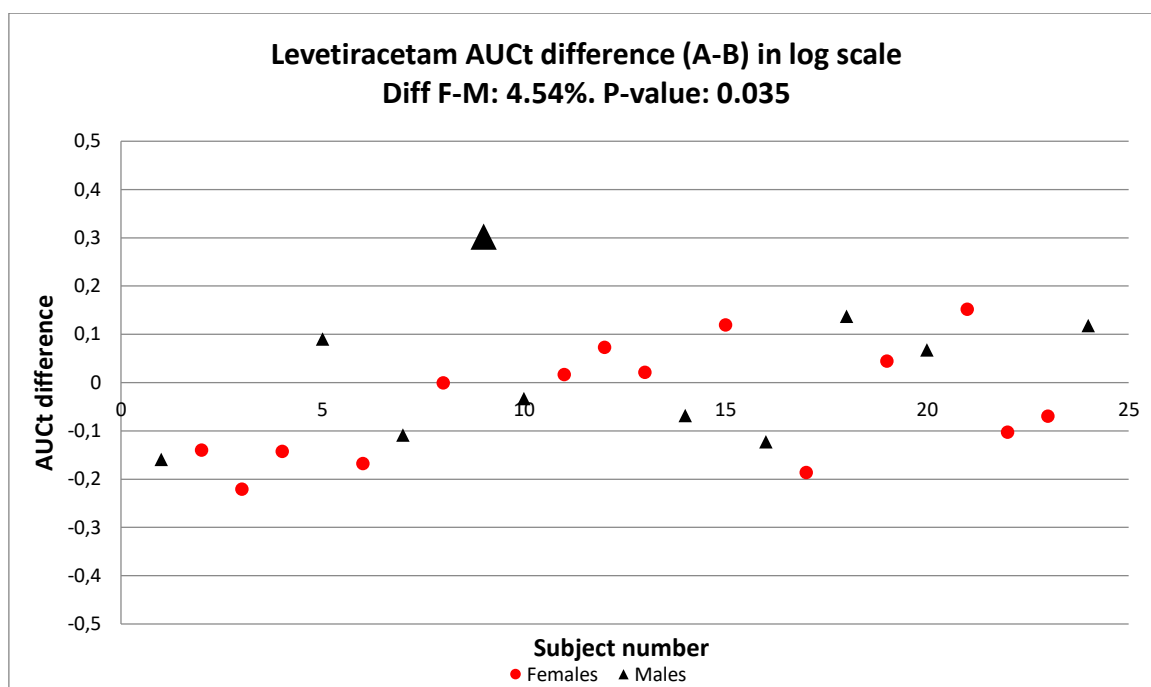


Figura 51. Distribución de las diferencias individuales de AUC_t en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Levetiracetam”.

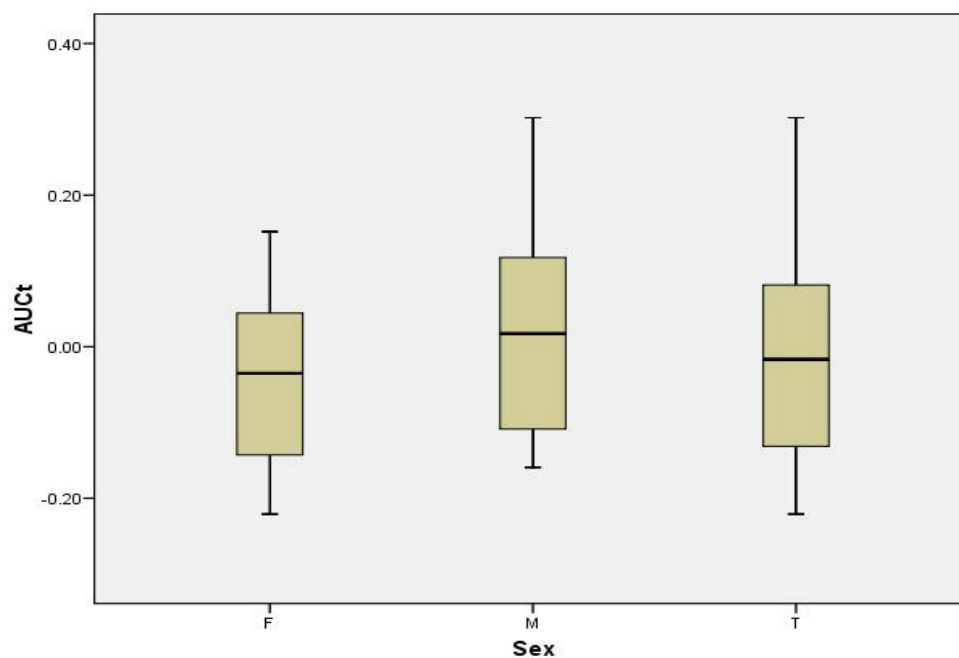


Figura 52. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para AUC_t en el estudio “Levetiracetam”.

La figura 51 muestra que la distribución de las diferencias individuales de hombres y mujeres se encuentran superpuestas, pero el sujeto #9 (hombre) parece estar fuera de la nube de puntos definida por los otros sujetos, aunque no es detectado como un valor extremo por el diagrama de cajas de la figura 52. La diferencia es significativa debido a la baja variabilidad (3,48%) de los datos. En cualquier caso, la diferencia observada entre sexos es solo del 4,54%, lo que no puede considerarse clínicamente relevante.

Esta diferencia se vuelve estadísticamente no significativa si se elimina el sujeto #9 ($p = 0,056$) y las diferencias entre mujeres y hombres serían sólo del 4,25%.

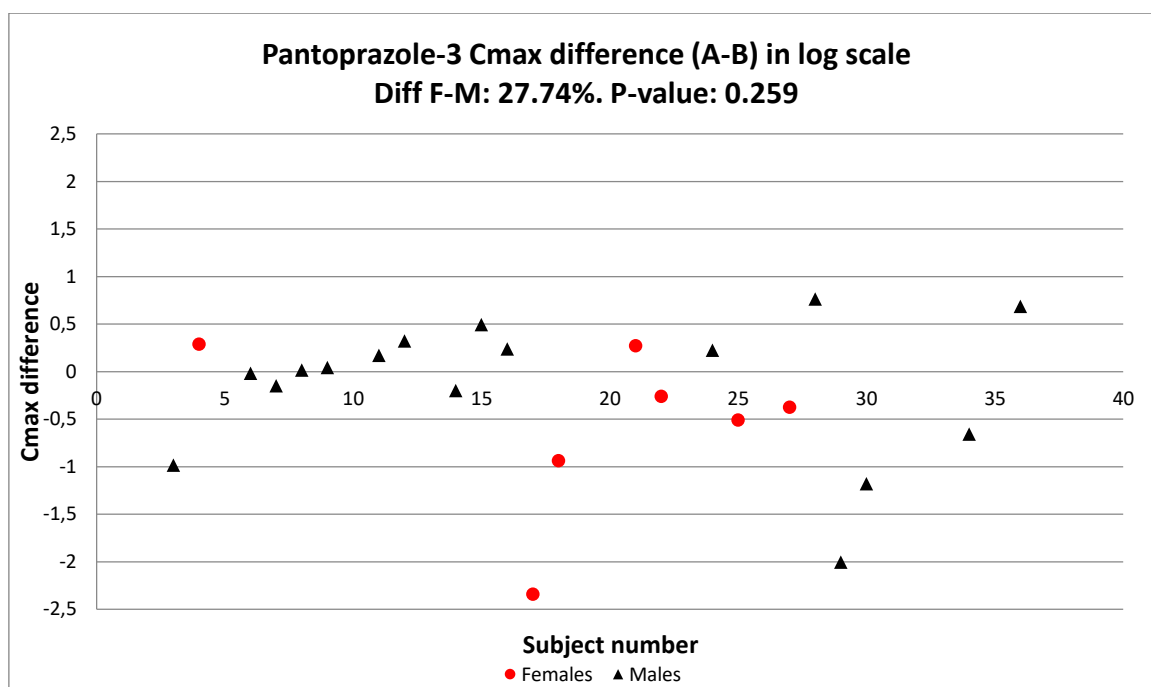


Figura 53. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Pantoprazol-3”.

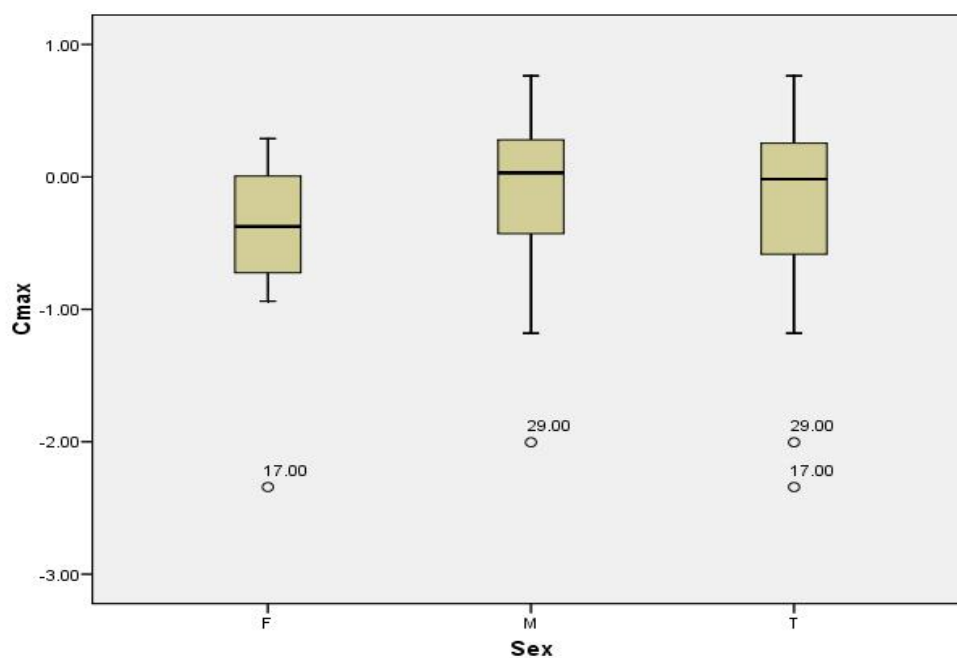


Figura 54. Diagrama de s en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Pantoprazol-3”.

La figura 53 muestra que la distribución de las diferencias individuales T-R en hombres se encuentran solapadas, pero los sujetos #29 (hombre) y #17 (mujer) se comportan como valores extremos con una diferencia T-R negativa para C_{\max} en escala logarítmica. En consecuencia, las medias de los grupos de sexo se desplazan en la misma dirección (hacia abajo). Sin embargo, la presencia de un solo valor extremo tiene un gran impacto en el grupo de mujeres porque en el estudio sólo participaron un total de 7 mujeres, en contraste con los 16 hombres. La estimación sesgada en el grupo de mujeres es probablemente la causa de las diferencias observadas en las estimaciones puntuales (27,74%). Además, los valores máximos se observan en dos sujetos hombres (#28 y #36).

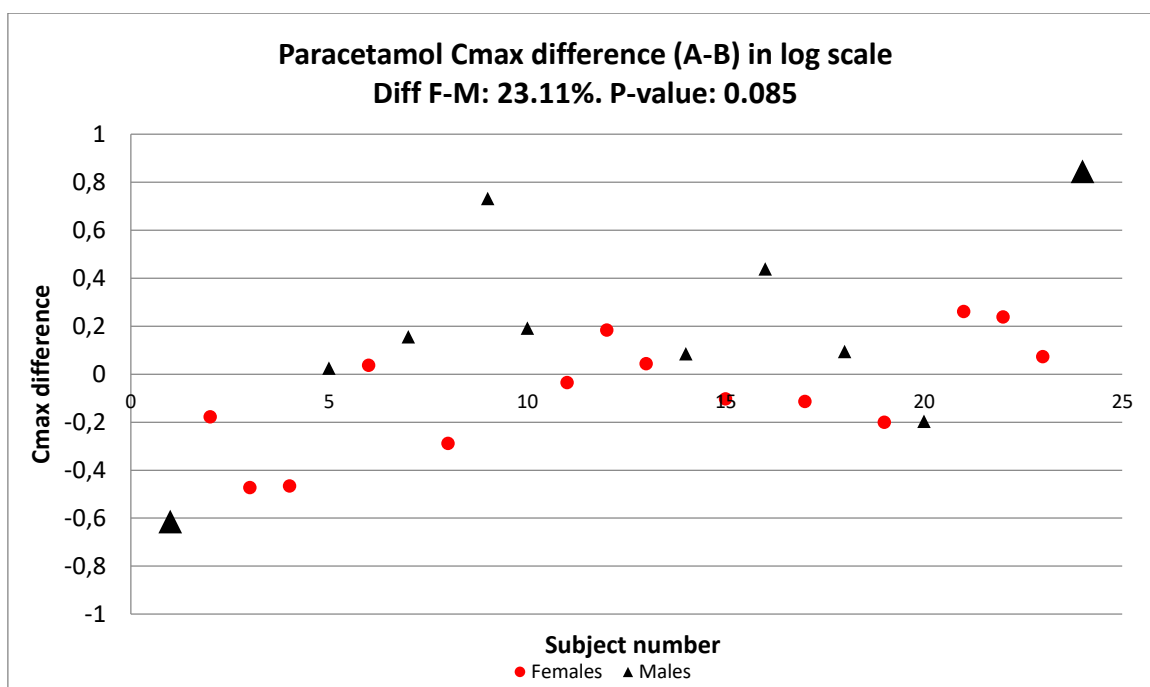


Figura 55. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Paracetamol”.

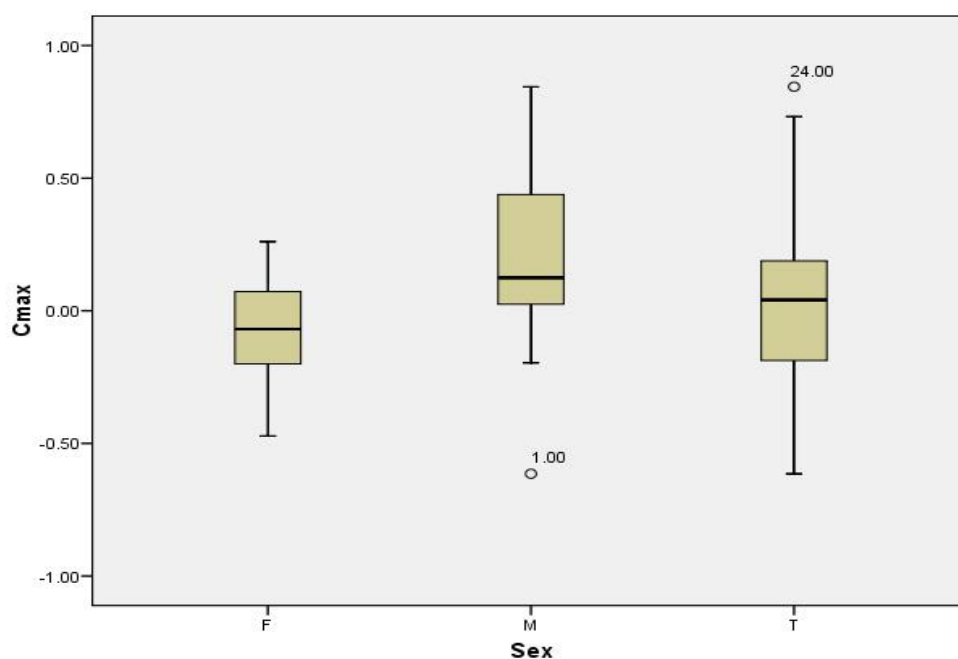


Figura 56. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Paracetamol”.

La figura 55 muestra que la distribución de las diferencias individuales de hombres y mujeres se encuentra solapada y todas las mujeres están dentro del rango definido por los hombres. Sin embargo, el sujeto #24 (hombre) es considerado como un valor extremo en el diagrama de cajas de toda la población y el sujeto #1 (hombre) es considerado como valor extremo en la población masculina debido a la asimetría introducida en el diagrama de cajas por los sujetos #9, #16 y #24. En consecuencia, la media del grupo masculino probablemente esté sesgada debido a la distribución asimétrica del conjunto de datos, que sugiere la existencia de interacción sexo por formulación (dif F-M: 23,11%).

Si el sujeto #24 se eliminase del análisis, la diferencia desaparecería (92,99% frente a 109,77%, es decir, 15,91%) y se volvería estadísticamente no significativa ($p = 0,201$).

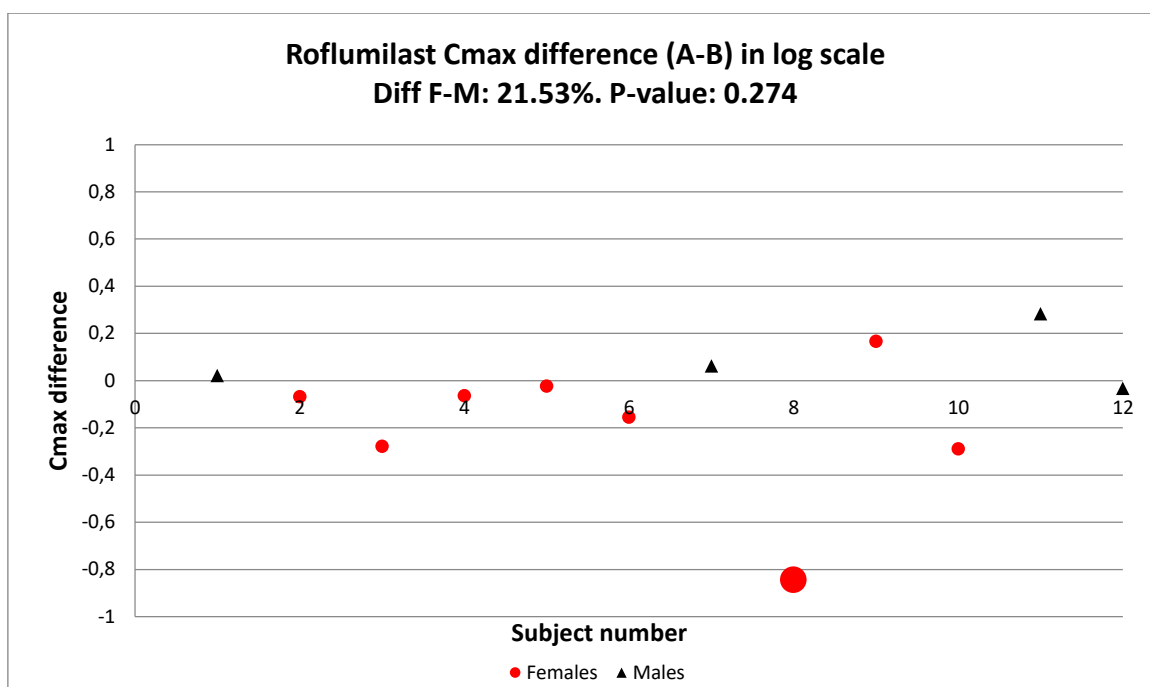


Figura 57. Distribución de las diferencias individuales de C_{\max} en escala logarítmica entre el producto test y referencia en mujeres (puntos) y hombres (triángulos) para el estudio “Roflumilast”.

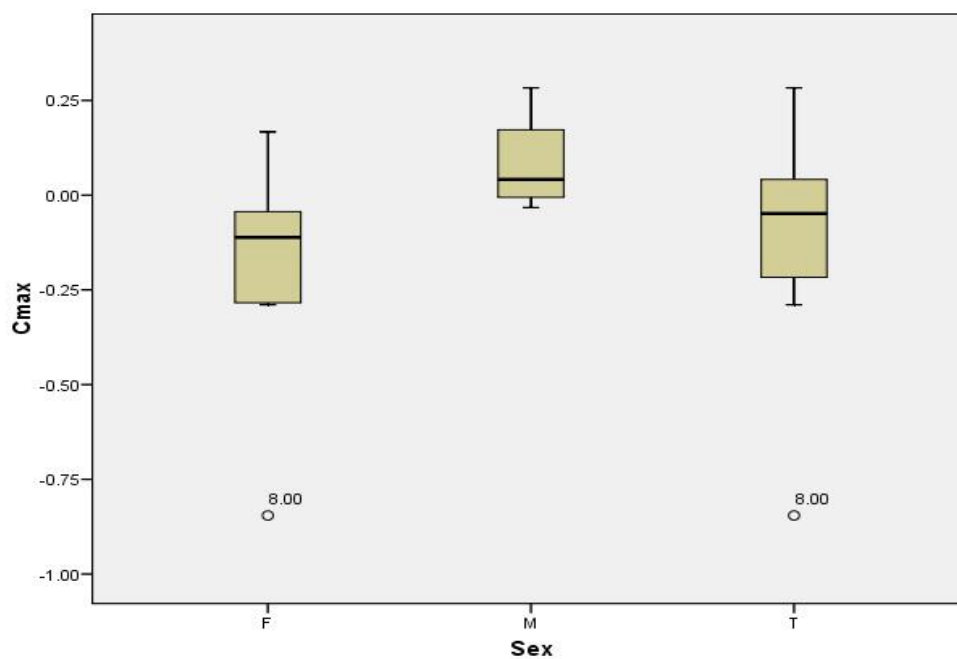


Figura 58. Diagrama de cajas en hombres (M), mujeres (F) y en toda la población (T) para C_{\max} en el estudio “Roflumilast”.

La figura 57 muestra que la distribución de las diferencias individuales entre hombres y mujeres se encuentra superpuesta, pero el sujeto #8 (mujer) se comporta como un valor extremo con una diferencia T-R para C_{\max} negativa (-0,85 para la diferencia T-R en escala logarítmica). Esto se confirma en el diagrama de cajas de la figura 58, que muestra una distribución muy asimétrica en el grupo femenino. Este valor extremo tiene una gran influencia en el valor promedio debido al pequeño número de mujeres en este estudio ($n=8$). Esta estimación media sesgada parece ser la causa de la interacción sexo por formulación que se sugiere (dif F-M: 21,53%). Esta diferencia desaparece (91,67% vs. 107,84%, es decir, 15,60%) y no es estadísticamente significativa si se elimina este valor extremo ($p = 0,174$).